

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE VETERINARIE**

Ciclo 32°

Settore Concorsuale: 07/H5

Settore Scientifico Disciplinare: VET/09

**FATTORI PROGNOSTICI IN CORSO DI SINDROME DA
DILATAZIONE E TORSIONE GASTRICA NEL CANE**

Presentata da: Grassato Lisa

Coordinatore Dottorato

prof. Gentile Arcangelo

Supervisore

prof. Valentini Simona

Esame finale anno 2020

SINTESI

La torsione gastrica (GDV) rappresenta una delle più frequenti emergenze chirurgiche nel cane. La mortalità piuttosto elevata giustifica il crescente interesse nella ricerca di indicatori prognostici che indirizzino le scelte del veterinario e tutelino il benessere animale, evitandone sofferenze immotivate. In letteratura veterinaria sono stati segnalati alcuni fattori (lattati, mioglobina, base excess, proteina C-reattiva, fattori della coagulazione, ecc), rivelatisi successivamente non totalmente affidabili dal punto di vista prognostico-predittivo. Scopo del mio progetto di dottorato era cercare di identificare ulteriori markers predittivi e rivalutare quelli più utilizzati tra quelli già descritti, in particolare lattati e proteina C-reattiva (CRP), valutandone l'affidabilità prognostica. Ricercando nuovi indicatori che fossero di pronta reperibilità tra quelli normalmente valutati nella pratica clinica con gli esami ematologici pre-chirurgici standard, l'attenzione si è focalizzata su lipasi pancreatica canina specifica (cPLI) e lipasi sierica, che potrebbero subire alterazioni predittive in relazione al coinvolgimento pancreatico conseguente alla sindrome. Per l'esecuzione di queste ricerche sono stati considerati i cani afferiti presso l'Ospedale Veterinario Universitario di Ozzano dell'Emilia con diagnosi di GDV, per i quali sono stati registrati i valori dei biomarkers scelti. I risultati ottenuti hanno indicato che cPLI, lipasi e CRP hanno una potenzialità per essere usati come fattori prognostici efficaci per GDV, contrariamente ai lattati.

La tesi si sviluppa in una prima parte compilativa, impostata come review della letteratura presente, e in una seconda parte sperimentale in cui verranno descritti i risultati degli studi effettuati durante il corso di dottorato. Nella prima parte verranno dunque approfonditi eziopatogenesi, fattori predisponenti, effetti sull'organismo, aspetti clinici e, in particolare, i

fattori prognostici-predittivi di necrosi gastrica e di sopravvivenza già valutati nel panorama letterario. Nella seconda parte, invece, verranno illustrati i risultati delle indagini condotte sull'affidabilità di cPLI, lipasi, CRP e lattati plasmatici come fattori prognostici in corso di GDV.

INDICE

INTRODUZIONE.....	6
CAPITOLO 1. SINDROME DILATAZIONE-TORSIONE GASTRICA: DEFINIZIONE, EZIOPATOGENESI, FATTORI PREDISPONENTI ED EFFETTI SULL'ORGANISMO	8
1.1 DEFINIZIONE ED EZIOPATOGENESI.....	8
1.2 FATTORI PREDISPONENTI	12
1.3 EFFETTI LOCALI E SISTEMICI	19
CAPITOLO 2: PRESENTAZIONE CLINICA E ITER DIAGNOSTICO	22
2.1 SEGNALAMENTO	22
2.2 ANAMNESI	22
2.3 VISITA CLINICA.....	23
2.4 ESAMI COLLATERALI	24
<i>2.4.1 Esame radiografico.....</i>	<i>25</i>
<i>2.4.2 Esame emocromocitometrico.....</i>	<i>26</i>
<i>2.4.3 Profilo biochimico.....</i>	<i>27</i>
<i>2.4.4 Esame coagulativo</i>	<i>27</i>
<i>2.4.5 Emogasanalisi</i>	<i>28</i>
CAPITOLO 3. SINDROME DILATAZIONE-TORSIONE GASTRICA: STABILIZZAZIONE DEL PAZIENTE E APPROCCIO TERAPEUTICO, POSSIBILI COMPLICANZE E TRATTAMENTO POSTOPERATORIO	30
3.1 STABILIZZAZIONE DEL PAZIENTE	30
3.2 APPROCCIO TERAPEUTICO.....	32
<i>3.2.1 Valutazione della vitalità tissutale e tecniche di correzione in caso di necrosi</i>	<i>33</i>

3.2.2 Trattamenti preventivi per eventuali recidive	35
3.4 VALUTAZIONI E TRATTAMENTO POSTOPERATORI	37
CAPITOLO 4. SINDROME DILATAZIONE-TORSIONE GASTRICA: FATTORI PROGNOSTICI E	
PREDITTIVI DI NECROSI GASTRICA E SOPRAVVIVENZA	40
4.1 FATTORI PROGNOSTICI CLINICI	41
4.2 FATTORI PROGNOSTICI (MARKERS) LABORATORISTICI.....	46
CAPITOLO 5. PARTE SPERIMENTALE	55
5.1 INDAGINE SULL’AFFIDABILITA’ DEI LATTATI PLASMATICI COME FATTORI PROGNOSTICI IN CORSO DI	
GDV	55
5.1.1 Introduzione	55
5.1.2 Materiali e metodi.....	58
5.1.3 Risultati	60
5.1.4 Discussioni	64
5.1.5 Conclusioni	66
5.2 INDAGINE SULL’AFFIDABILITA’ DELLA LIPASI PANCREATICA SPECIFICA E SULLA LIPASI COME	
FATTORI PROGNOSTICI IN CORSO DI GDV.....	67
5.2.1 Introduzione	67
5.2.2 Materiali e metodi.....	68
5.2.3 Risultati	71
5.2.4 Discussioni	75
5.2.5 Conclusioni	79
5.3 CONCLUSIONI	80
BIBLIOGRAFIA	82

INTRODUZIONE

Questa tesi è il risultato finale di una progettualità di tre anni, portata a termine durante il mio corso di dottorato, che ha raggruppato due studi principali.

Questo elaborato è suddiviso in due macro-componenti: la prima, compilativa, organizzata come una review della principale letteratura veterinaria, approfondisce e spiega diversi aspetti della sindrome dilatazione-torsione gastrica nel cane, e la seconda, sperimentale, in cui vengono riportati i risultati ottenuti dai progetti compiuti sulla ricerca e la valutazione dei fattori prognostico-predittivi per questa sindrome.

Nel primo capitolo verranno dapprima illustrate la definizione e l'eziopatogenesi della dilatazione-torsione gastrica nel cane, con degli accenni alle differenze con le altre specie; verranno quindi elencati e approfonditi i fattori che si ipotizza possano predisporre il paziente alla sindrome, seguiti dalla descrizione degli effetti locali e sistemici a cui questa problematica potenzialmente fatale può condurre.

Nel secondo capitolo verranno indicati la presentazione clinica classica del cane affetto da dilatazione-torsione gastrica, insieme all'iter standard, dalla visita clinica agli esami di supporto, da seguire per arrivare alla diagnosi.

Nel capitolo terzo verranno affrontati i trattamenti di stabilizzazione, di correzione e di supporto da fornire ai pazienti affetti dalla sindrome.

Il quarto capitolo tratterà l'argomento centrale della tesi: verranno dettagliatamente presentati e confrontati gli studi presenti nel panorama letterario veterinario a proposito dei fattori predittivi della presenza di necrosi gastrica e prognostici di sopravvivenza in corso di dilatazione-torsione gastrica.

Il quinto ed ultimo capitolo corrisponde alla seconda macro-componente della tesi: la parte sperimentale. Questo sarà composto dalla descrizione dei due principali lavori effettuati nel corso del dottorato: l'indagine sull'efficacia come fattori prognostici dei lattati ematici nel primo, della lipasi, della lipasi pancreatica specifica e della proteina c-reattiva nel secondo.

CAPITOLO 1. SINDROME DILATAZIONE-TORSIONE GASTRICA: DEFINIZIONE, EZIOPATOGENESI, FATTORI PREDISPONENTI ED EFFETTI SULL'ORGANISMO

1.1 DEFINIZIONE ED EZIOPATOGENESI

La sindrome dilatazione-torsione gastrica, o *GDV* (dall'inglese Gastric Dilatation-Volvulus), rappresenta nel cane una condizione potenzialmente in grado di mettere a rischio la vita del paziente, soprattutto quando non viene riconosciuta e trattata tempestivamente (Glickman LT et al., 2000).

Si tratta di una condizione che trova la sua terapia di elezione nella correzione chirurgica, che però deve sempre essere accompagnata da un corretto protocollo gestionale e farmacologico nelle fasi pre-, intra- e post-operatorie per assicurare un esito favorevole. Rappresenta indubbiamente una delle più frequenti urgenze segnalate a carico della specie canina.

GDV prevede sostanzialmente una dilatazione acuta dello stomaco caratterizzata da una raccolta del contenuto (gassoso, solido e/o fluido), associata ad ostruzione del cardias e del piloro, aggravata da una rotazione dell'organo sul proprio asse in senso orario o, meno frequentemente, antiorario. La torsione in senso orario può presentarsi parziale o completa, con un grado di rotazione che varia da 90° a 360°, con una maggiore incidenza tra i 220° e i 270° (Radlinsky MG, 2013). Il piloro si disloca seguendo la parete addominale destra verso la linea alba, ventralmente rispetto al corpo e al fondo dello stomaco, fino a portarsi verso la parete addominale sinistra; fondo e corpo si vengono a trovare quindi dislocati in direzione dorsale verso la parete addominale destra. A causa di questa rotazione, il foglietto ventrale del grande omento ricopre lo stomaco quasi completamente e quello dorsale talvolta non

resiste alle tensioni e si rompe (Fig.1) (Matthiesen DT, 2001). Durante la torsione in senso antiorario, invece, il massimo grado di rotazione riscontrabile è 90°: il piloro si porta ventralmente lungo la parete addominale destra e tende ad avvicinarsi all'esofago, mentre corpo e fondo subiscono uno spostamento minimo. In questo caso la grande curvatura si localizza in prossimità della linea alba e il grande omento non subisce spostamenti (Van Sluijs FJ e Happe RP, 1985).

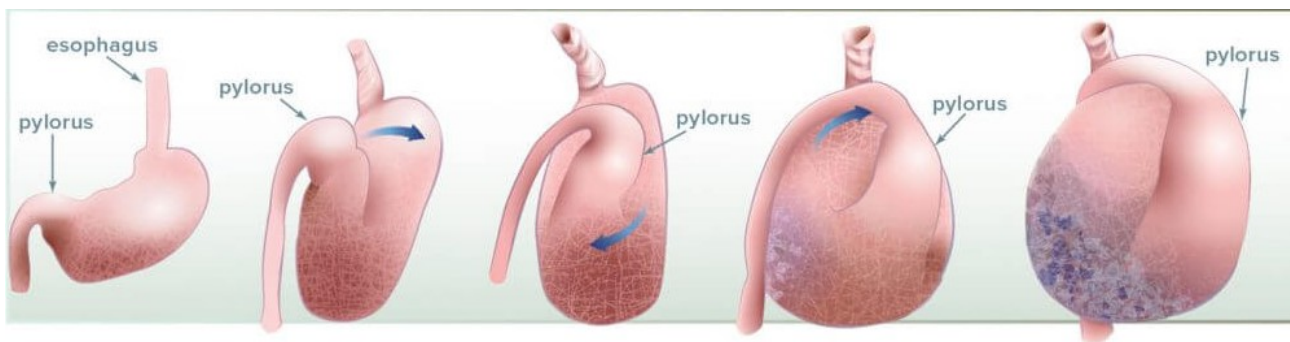


Fig.1 – Rappresentazione grafica di dilatazione e torsione gastrica in senso orario

(modificata da: <https://thepethospitals.com>)

Nonostante i numerosi studi al riguardo, l'eziopatogenesi precisa della GDV non è completamente nota. Sono tuttavia note possibili correlazioni tra la sindrome e due situazioni apparentemente simili: la *congestione alimentare* e la *dilatazione gastrica acuta*. La congestione alimentare è definibile come un aumento di volume gastrico, con mantenimento della normale posizione d'organo, causata da ingestione di eccessive quantità di alimento. La dilatazione gastrica acuta prevede una raccolta prevalentemente gassosa con mantenimento della corretta topografia dell'organo (Radlinsky MG, 2013). Varie ipotesi sono state avanzate per spiegare l'origine del gas: aerofagia, fermentazione batterica o dei carboidrati presenti nel lume gastrico, e altre reazioni metaboliche, come

quella derivante dalla reazione tra i bicarbonati presenti nella saliva deglutita e gli acidi gastrici (Rasmussen L, 2005; Van Kruningen HJ et al, 2013).

Uno studio del 1977 sui gas contenuti nello stomaco in corso di GDV indicava che questi fossero molto simili alle componenti dell'aria atmosferica, inducendo a considerarne l'aerofagia la causa principale (Caywood DD et al., 1977). Uno studio simile del 2013 suggeriva invece che la concentrazione di CO₂ fosse troppo elevata per accordarsi all'ipotesi precedente: la derivazione dalla fermentazione dell'alimento all'interno del lume gastrico sembrava più plausibile (Van Kruningen HG et al., 2013).

L'ipotesi principale per la raccolta di liquidi prevede invece che questi derivino dalla fisiologica secrezione gastrica e dalla trasudazione conseguente alla congestione venosa che si verifica in corso di questa sindrome. L'impossibilità di ricorrere ai normali mezzi di rimozione dei gas quali eruttazione, vomito e passaggio pilorico è causata da ostruzione funzionale o meccanica di cardias e piloro. Rimane tuttavia non chiaro se l'evento prodromico sia la torsione dell'organo, a cui consegue la dilatazione, o se questi due eventi si verifichino in ordine inverso; in quest'ultimo caso rimane inspiegato il motivo per cui i gas non vengono rimossi, non incontrando impedimenti meccanici alla loro fuoriuscita (Radlinsky MG, 2013).

Sottocategoria della GDV è considerato il *volvolo gastrico cronico*, caratterizzato da dislocazione parziale e cronica dello stomaco, solitamente intermittente, che si verifica generalmente in assenza di dilatazione. Si tratta di una sindrome normalmente progressiva e non rischiosa per la vita del paziente, associata a disoressia, perdita di peso, borborigmi, flatulenze ed episodi di vomito (Radlinsky MG, 2013; Rasmussen L, 2005). Questa sindrome è stata descritta raramente nel cane (Leib MS e Blass CE, 1984; Leib MS et al., 1987; Paris JK et al., 2011), probabilmente perché, oltre ad essere non frequente, può risultare difficile da diagnosticare, dal momento che i segni clinici sono molto aspecifici e la presentazione è

intermittente: è possibile infatti che, al momento della valutazione clinica, lo stomaco appaia normoposizionato (Paris JK et al., 2011).

Il più ampio e recente riscontro bibliografico riporta 7 casi; la diagnosi di volvolo gastrico cronico è stata ottenuta con un approccio multimodale, utilizzando le tecniche radiografica, ultrasonografica ed endoscopica. Tutti i cani considerati sono stati sottoposti a gastropessi: 5 cani presentavano, al momento dell'intervento, un volvolo di 90°, mentre per gli altri 2 lo stomaco era in posizione normale. Uno dei cani è stato poi sottoposto ad eutanasia per una polmonite ab ingestis, mentre tutti gli altri hanno dimostrato un'ottima ripresa, con completa remissione dei sintomi e riacquisizione di peso (Paris JK et al., 2011).

Pur essendo descritta prevalentemente nel cane, GDV è stata registrata più raramente anche in altre specie: uomo, suino, gatto, cavia, panda rosso, orso e alcuni canidi selvatici (Bredal WP et al., 1996; Formaggini L et al., 2007; Lee KJ et al., 1977; Griffith JW et al., 1984; Mitchell EB et al., 2010; Dudley ES e Boivin GP, 2011; Schlanser JR et al., 2014; Neilsen C et al., 2014; Hinton JD et al., 2016; Hinton JD et al., 2017; Nogradi AL et al., 2017).

In tutte le specie questa sindrome rappresenta una evenienza grave e potenzialmente letale; anche la sintomatologia è comune a tutte e prevede una distensione gastrica acuta, dolorabilità addominale, conati di vomito infruttuosi e shock. L'eziopatogenesi può variare invece da specie a specie.

Nell'uomo e nel gatto l'eziologia prevede generalmente anomalie anatomiche. Nella specie umana, circa il 30% dei casi sono considerati primari (causati da eccessiva lunghezza dei legamenti gastrici), mentre nel 70% sono secondari a difetti congeniti o acquisiti: in particolare è citata l'ernia diaframmatica, peraltro causa più frequentemente riscontrata anche nel gatto (Formaggini L et al., 2007; Dudley ES e Boivin GP, 2011). Le alterazioni sono riportate più spesso negli individui di sesso maschile; fattori di rischio quali abitudini

alimentari o fattori comportamentali non sembrano giocare un ruolo fondamentale (Dudley ES e Boivin GP, 2011).

Nel suino, al contrario che nell'uomo, le cause principali di questa sindrome vanno ricercate in pratiche alimentari, tipo di alimentazione e stress, quest'ultimo legato in particolare all'eccitazione al momento del pasto (Dudley ES e Boivin GP, 2011).

Anche nella cavia l'alimentazione e lo stress sembrano essere importanti fattori di rischio, dal momento che la sindrome è spesso riscontrata negli animali usati come riproduttori, in quelli alimentati con grandi quantità di cibo secco e in quelli con disordini della motilità gastrica, spesso derivanti da problemi dentali. Ad oggi non sono riportati casi di cavie sopravvissute a GDV (Mitchell EB et al., 2010; Dudley ES e Boivin GP, 2011; Nogradi AL et al., 2017).

Sono stati segnalati sporadici casi di GDV in ursidi, furetti e cani selvatici, ma in queste specie l'eziologia non è chiara (Hinton JD et al., 2016; Hinton JD et al., 2017). Nel panda rosso in cattività sono segnalati casi letali di GDV: non sembrano esserci correlazioni con i fattori di rischio maggiormente riconosciuti per il cane e l'ipotesi principale è che l'eziologia sia correlata allo stress e alle condizioni di vita in cattività (Schlanser JR et al., 2014).

1.2 FATTORI PREDISPONENTI

In letteratura veterinaria sono stati presi in considerazione diversi fattori predisponenti per la GDV nel cane, che ad oggi è considerata come una sindrome multifattoriale per la quale soltanto pochi fattori di rischio sono stati individuati in maniera chiara (Glickman LT et al., 1998).

Sono stati infatti indagati fattori di rischio *legati specificatamente al segnalamento e alla costituzione del cane, condizioni gestionali, fattori ambientali e caratteristiche emotive o psicologiche soggettive* (Pipan M et al., 2012).

- **Fattori legati al segnalamento e alla costituzione del cane**

- *Razza e taglia*: si ritiene che i cani di razza grande e gigante siano maggiormente a rischio di sviluppare GDV (Glickman LT et al., 1998; Glickman LT et al., 2000; Beck JJ et al., 2006; Mackenzie G et al., 2010). Uno studio abbastanza recente eseguito su 2551 cani con GDV ha indicato che le quattro razze più frequentemente rappresentate sono Pastore Tedesco (12%), Alano (11%), Barbone (5%) e Dobermann Pinscher (4%) (Pipan et al., 2012). Altre razze riportate in letteratura sono Pastore Scozzese, Weimaraner, Setter Irlandese, Setter Gordon, Bloodhound, San Bernardo, Mastiff, Labrador e Golden Retriever e Chow Chow (Glickman LT et al., 1998; Glickman LT et al., 2000; Beck JJ et al., 2006; Mackenzie G et al., 2010). A queste si aggiungono il Grand Bleu de Gascogne e l'Otterhound, indicate come molto rappresentative per l'incidenza di GDV in Gran Bretagna (Evans KM e Adams VJ, 2010). Nello studio di Evans KM e Adams VJ (2010) sono riportati anche alcuni rari casi di GDV in cani di razze medio-piccole come Bassotto, Bulldog francese, Piccolo Levriero italiano, Bull terrier, Corgi, Whippet, West Highland white terrier, Beagle e Pechinese. GDV è stata riportata anche nel Bishon Frise (Grange AM et al., 2012). Infine, anche nello studio di Sartor AJ et al. (2013), GDV è stata riscontrata in cani di razze piccole e non riconosciute come predisposte alla sindrome, quali Shar-Pei e Samoiedo (Sartor AJ et al. 2013).
- *Conformazione del torace e stato di nutrizione*: il torace profondo e un body condition score (BCS) scarso sembrano predisporre maggiormente alla sindrome (Glickman LT et al., 1998; Elwood CM, 1998; Glickman LT et al., 2000; Raghavan M et al., 2004). In particolare, nello studio condotto da Schellenberg D et al. (1998) su cani di

razza Setter Irlandese, gli autori hanno messo in evidenza che all'aumentare della profondità del torace in rapporto alla sua larghezza, il rischio che gli animali manifestassero GDV cresceva (Schellenberg D et al., 1998; Bell JS, 2014). Questa indicazione era già stata evidenziata nello studio di Guilford WG et al. (1996), secondo il quale un torace stretto e profondo fa sì che la posizione dello stomaco rispetto all'esofago sia tale per cui l'eruttazione è più difficoltosa (Guilford WG et al., 1996): gli autori indicavano comunque la necessità di eseguire ulteriori accertamenti a riguardo.

- Fattori *genetici*: la parentela di primo grado con un cane con anamnesi di GDV è stata indicata come fattore di rischio. L'aumento del rischio nei cani con fratelli che hanno sofferto di GDV può essere spiegato con una condivisione di fattori genetici o di fattori ambientali comuni nei primi mesi di vita. L'aumento del rischio nei cani con un genitore colpito da GDV potrebbe essere correlato più direttamente alla genetica. In particolare è stato ipotizzato, ma ancora non dimostrato, che geni specifici siano responsabili dell'aumento del rischio, forse per i loro effetti sul fenotipo dell'animale, come ad esempio sulla conformazione toracica o sulla mole del cane (Schellenberg D et al., 1998; Glickman LT et al., 2000; Bell JS, 2014).
- *Età*: i cani di giovane età sono meno predisposti rispetto a quelli di mezza età e di età più avanzata: la possibile spiegazione proposta dai vari autori è che con l'avanzare dell'età i legamenti che mantengono lo stomaco in situ diventino via via più lassi e meno competenti nel contrastare la torsione d'organo. (Elwood CM, 1998; Theyse LF et al., 1998; Glickman LT et al., 2000; Pipan M et al., 2012; O'Neill DG et al., 2017).
- *Sesso*: il ruolo di questo fattore come predisponente alla GDV è molto dibattuto e le indicazioni presenti in letteratura non sono univoche. Il genere maschile era ritenuto essere più predisposto in alcuni studi (Brockman DJ et al., 1995; Glickman LT et al.,

1998): lavori più recenti, al contrario, non hanno riscontrato differenze significative tra i due sessi (Theyse LF et al., 1998), o indicano addirittura le femmine intere come maggiormente a rischio (Evans KM e Adams VJ, 2010; Pipan M et al., 2012). Tutti gli studi citati sono concordi nell'affermare che ulteriori indagini sarebbero necessarie: la totale discordanza di pareri non permette di individuare una spiegazione univoca che determini un aumento di rischio in un genere piuttosto che nell'altro (Maki LC et al., 2017; O'Neill DG et al., 2017).

- *Stato di salute generale*: una precedente splenectomia o patologie croniche come splenopatie o enteropatie infiammatorie croniche possono predisporre i cani a GDV (Glickman LT et al., 2000; Raghavan M et al., 2004; Grange AM et al., 2012). Diverse teorie sono state avanzate per spiegare perché una precedente splenectomia possa favorire la comparsa di GDV: in primo luogo, la mobilità gastrica potrebbe aumentare a causa del vuoto creato nella cavità addominale dall'assenza dell'organo, soprattutto se aumentato di volume; ancora, la torsione dell'organo o la presenza di una massa potrebbero provocare lo stiramento dei legamenti che mantengono lo stomaco in posizione, aumentandone la mobilità (Millis ML et al., 1995; Marconato L, 2006; Sartor AJ et al., 2013). È stata anche presa in considerazione l'ipotesi che l'insorgenza di GDV in cani sottoposti a splenectomia sia dovuta ad una coincidenza, poiché sia la GDV che le patologie che richiedono l'asportazione della milza sono entrambe più frequenti nella stessa tipologia di pazienti (cani di razze grandi o giganti) (Marconato L, 2006). Gli studi di Goldhammer MA et al. (2010) e Grange AM et al. (2012) non hanno evidenziato una correlazione significativa tra comparsa di GDV e una anamnesi pregressa di splenectomia, portando quindi a non considerare quest'ultima come un fattore di rischio. In uno studio caso-controllo più recente, tuttavia, è stato evidenziato che cani che avevano subito un intervento di splenectomia erano 5,3 volte più soggetti a GDV rispetto a cani non sottoposti ad

asportazione dell'organo: tali considerazioni inducevano gli autori a consigliare sempre la gastropessi preventiva nei soggetti più a rischio (Sartor AJ et al., 2013).

Recentemente si è dimostrato che i cani che hanno sviluppato GDV erano il 4% di quelli sottoposti a splenectomia e l' 1,4% di quelli che avevano subito altri tipi di interventi. Secondo gli autori questo dato può avere una certa rilevanza clinica, ma non essendo statisticamente significativa ha portato alla conclusione che una pregressa splenectomia non costituisce fattore di rischio per GDV (Maki LC et al., 2017).

- ***Condizioni gestionali***

- Tipo di alimento e gestione dell'alimentazione: in letteratura sono presenti opinioni contrastanti sull'importanza del tipo di cibo somministrato e sulla frequenza, numero dei pasti e quantità di alimento a pasto. Secondo Raghavan M et al. (2004), il cibo commerciale secco non aumenta il rischio di incorrere in GDV; altri autori affermano, invece, che questo potrebbe concorrere allo sviluppo della sindrome, poiché i croccantini tendono ad espandersi all'interno dello stomaco imbibendosi di fluidi, influenzando la velocità di svuotamento gastrico e appesantendo l'organo (Theyse LF et al., 1998; Pipan M et al., 2012; Van Kruiningen HG et al., 2013). Nella popolazione di cani considerata in uno studio del 2000, l'inclusione di cibo casalingo nella dieta del cane è stato associato ad un calo del 59% del rischio di GDV, mentre un calo del 28% è stato riscontrato in caso di dieta umida (Glickman LT et al., 2000). Nello studio di Pipan M et al. (2012), al contrario, l'alimentazione con scarti provenienti dalla tavola non ha dimostrato alcun ruolo protettivo, mentre l'aggiunta di pesce o uova alla dieta secca ha determinato un calo del rischio. In aggiunta, la somministrazione di una quantità di cibo importante, soprattutto se fornita all'animale in un solo pasto quotidiano, sembra direttamente correlata ad una maggiore probabilità di presentazione di GDV, come dimostrato da uno studio prospettico su

106 cani con GDV e 212 sani (gruppo controllo). L'ipotesi che spiegherebbe questo fenomeno è che un grosso volume di cibo possa distendere eccessivamente la parete dello stomaco e aumentarne il peso, determinando uno stiramento dei legamenti gastrici (Raghavan M et al., 2004).

- **Attività fisica:** la restrizione dell'attività prima e dopo i pasti rappresenta un altro punto controverso. Un moderato esercizio fisico sembra associato ad una diminuzione del rischio di GDV (Glickman LT et al., 2000; Pipan M et al., 2012;). Gli autori di un vasto studio retrospettivo eseguito su 2551 cani hanno infatti notato che i cani che erano soliti trascorrere una stessa quantità di tempo all'interno e all'esterno, avendo quindi un livello di attività fisica superiore a quelli abituati a vivere solamente in spazi chiusi, ma non esagerata, avevano riportato un rischio inferiore di sviluppare GDV; lo stesso valeva per i cani a cui era concesso di correre e giocare dopo il pasto (Pipan M et al., 2012). Secondo gli autori, questo fenomeno potrebbe corrispondere a quello che succede nell'uomo, nel quale è stato dimostrato che un moderato esercizio fisico migliora lo svuotamento gastrico e facilita il transito intestinale, riducendo la permanenza di residui di feci e gas intraluminale. Nell'uomo è stato anche dimostrato che un esercizio esagerato e stancante inibisce lo svuotamento gastrico, interferisce con l'assorbimento gastroenterico e provoca disordini gastroenterici (Bi L e Triadafilopoulus G, 2003).

- **Fattori ambientali:** sembra che i cani che vivono in ambiente urbano familiare abbiano una più elevata probabilità di presentare GDV (Glickman LT et al., 2000; Pipan M et al., 2012). In uno studio del 2005, la maggior frequenza di episodi di GDV si registrava in giugno e agosto, generalmente nelle giornate più calde: non è però stato possibile trovare una spiegazione soddisfacente a tale fenomeno (Dennler R et al., 2005). In studi condotti su cani di razza Pastore tedesco e Pastore belga di una base militare americana è stato rilevato che l'incidenza più alta di GDV si riscontrava nei mesi di novembre,

dicembre e gennaio, in genere durante le ore più fredde della giornata; una spiegazione a tale fenomeno non è stata ancora trovata, sebbene sia stato ipotizzato che il maltempo possa rendere più agitati e ansiosi alcuni soggetti e quindi più predisposti a GDV (Herbold JR et al., 2002; Moore GE et al., 2007). È una credenza diffusa che nelle notti di plenilunio aumenti la probabilità di presentazione in clinica di cani con GDV. Uno studio condotto per valutare la possibile correlazione con le fasi lunari ha rilevato che in generale durante i periodi di luna piena si registrano più visite ed interventi in regime di urgenza, tra cui anche gli episodi di GDV; lo studio tuttavia non verteva solo su questo tipo di emergenza e non ha ricercato una particolare correlazione in questo senso (Wells RJ et al., 2007).

- **Caratteristiche emotive o psicologiche soggettive:** cani agitati, aggressivi, paurosi o ansiosi sembrano essere maggiormente predisposti rispetto ad animali più tranquilli (Glickman LT et al., 2000; Pipan M et al., 2012). Un dato anamnestico comune a diversi animali è l'essere incorsi nelle 24 ore precedenti la manifestazione di GDV in eventi stressanti, come la detenzione in kennel ($p < 0.05$) o un viaggio in macchina ($p < 0.025$) (Elwood CM, 1998).
- **Ingestione di corpi estranei:** è stata correlata all'insorgenza di GDV in uno studio del 2012. Su 118 casi trattati chirurgicamente per GDV, 12 (10,2%) avevano anche ingerito un concomitante corpo estraneo. Secondo le analisi statistiche condotte in tale studio è stato possibile definire che i cani che avevano ingerito corpi estranei avevano quasi quintuplicato le probabilità di presentare GDV rispetto agli altri. Nonostante gli autori non avessero compreso il meccanismo che aveva indotto la sindrome nei cani considerati, riportano che in letteratura veterinaria sono presenti alcune speculazioni a riguardo: è possibile infatti che la presenza di un corpo estraneo induca gastrite e ingombro sterico che possono indurre difficoltà nello svuotamento gastrico e facilitarne così la dilatazione (De Battisti A et al., 2012).

1.3 EFFETTI LOCALI E SISTEMICI

La GDV implica ripercussioni fisiopatologiche locali e sistemiche gravi che possono condurre a morte l'animale.

Le complicazioni a livello gastrico sono indotte da fenomeni di ipoperfusione e ischemia, che nei quadri peggiori possono risultare in necrosi più o meno estesa della parete dell'organo, più frequentemente riscontrabile a carico del fondo gastrico e della grande curvatura. Le cause principali di questi fenomeni sono la compressione sulla vena porta e la vena cava caudale che rendono difficoltoso il ritorno venoso, la possibile rottura o l'occlusione meccanica di arterie e vene gastriche brevi, e il collasso dei capillari della parete gastrica indotto da aumento della pressione intragastrica, dislocazione e malposizionamento dell'organo (Rasmussen L, 2005; Bojrab MJ, 2014). A causa delle strette connessioni anatomiche e vascolari tra stomaco e milza, anche la topografia di quest'ultima risulta spesso alterata in corso di GDV. Tale dislocazione può indurre occlusione dei vasi splenici e schiacciamento della vena porta, con conseguente congestione ematica splenica e splenomegalia (Wingfield WE et al., 1976).

La compressione su vena cava e vena porta, indotta dallo stato di sovradistensione dello stomaco, è anche la principale causa dei fenomeni sistemici associati alla sindrome. La riduzione del ritorno venoso che ne deriva, infatti, può determinare ischemia miocardica, decremento della gittata cardiaca e abbassamento della pressione arteriosa. Queste modificazioni inducono uno stato di shock generale di cui diversi organi possono risentire, in particolare cuore, reni, pancreas e tratto gastroenterico. Un importante aumento di volume dello stomaco determina inoltre compressione diretta sul diaframma e quindi su torace e polmoni, rendendo più difficoltosa la respirazione e gli scambi gassosi e peggiorando

potenzialmente il quadro di ipossia tissutale (Radlinsky MG, 2013; Wingfield WE et al., 1976).

Gli scompensi respiratori che intervengono in corso di GDV possono indurre lo sviluppo di acidosi respiratoria, che si affianca a quella metabolica determinata dai problemi di perfusione tissutale (Rasmussen L, 2005).

L'ipertensione portale può causare una diminuzione della funzionalità epatica, determinando una ridotta capacità di rimozione dal circolo di endotossine e batteri che possono più facilmente essere immessi in circolo a causa della maggiore permeabilità della parete gastrica e/o intestinale danneggiata (Saba TM, 1975; Wingfield WE et al., 1976). Questi elementi risultano ovviamente dannosi per l'organismo a livello sistemico in quanto stimolano l'attivazione della cascata infiammatoria con liberazione di fattori dell'infiammazione come prostaglandine, istamina, bradichinina e serotonina (Goodwin JK e Shaer M, 1989).

Un altro importante e grave quadro che si può verificare è l'insorgenza di coagulazione intravasale disseminata (CID), possibile causa di insufficienza multiorganica insieme a quelle già viste (Matthiesen DT, 2001).

Tutti questi fattori sono causa di *fenomeni metabolici patologici*. I normali meccanismi aerobici di produzione di ATP vengono infatti meno molto presto, a causa del deficit di perfusione ed ossigenazione tissutale: si attivano i meccanismi metabolici anaerobici con produzione di acido lattico, indotta anche dalla presenza di endotossiemia. Si viene quindi a determinare uno stato di acidosi metabolica, che si aggrava via via che gli scambi respiratori dell'animale diventano più difficoltosi. In un secondo momento si può sviluppare anche alcalosi metabolica dovuta alla perdita di ioni idrogeno all'interno del lume gastrico. Durante la fase iniziale, inoltre, la liberazione di catecolamine induce un innalzamento del glucosio ematico, che viene poi però metabolizzato sempre più difficilmente a causa della attivazione della respirazione anaerobia e consumato per la produzione di energia,

determinando quindi uno stato di ipoglicemia nelle fasi più tardive dello shock (Rasmussen L, 2005).

CAPITOLO 2: PRESENTAZIONE CLINICA E ITER DIAGNOSTICO

2.1 SEGNALAMENTO

Come già descritto, questa sindrome colpisce nella grande maggioranza dei casi cani di taglia grande e gigante, di età avanzata e con conformazione del torace stretta e profonda: in genere quindi questo è il segnalamento dei pazienti che si presentano con GDV. È consigliabile tuttavia considerarla possibile anche in soggetti con segnalamento differente, in quanto, come già indicato in precedenza, sono stati segnalati casi di GDV anche in soggetti con caratteristiche diverse.

2.2 ANAMNESI

In genere i primi sintomi che i proprietari notano sono la rapida insorgenza di aumento di volume dell'addome, conati di vomito infruttuosi, agitazione dell'animale e affanno; se capita loro di vedere l'animale già dopo alcune ore dalla comparsa dei primi sintomi, viene descritto anche abbattimento del sensorio. Talvolta i proprietari riportano che un parente prossimo del cane ha sofferto di GDV in passato. Il dato anamnestico più importante da ottenere dal proprietario per aiutare nella formulazione di una prognosi è da quanto tempo sono insorti i sintomi: trattandosi di una vera e propria urgenza, il tempo trascorso dall'insorgenza del problema è direttamente proporzionale alla percentuale di insuccesso terapeutico (Radlinsky MG, 2013; Glickman LT et al., 2000; Rasmussen L, 2005).

2.3 VISITA CLINICA

Le voci dell'esame obiettivo generale che risultano più frequentemente alterate in corso di GDV sono le seguenti.

- Segni e atteggiamenti particolari: il cane può presentare conati di vomito infruttuosi, scialorrea, addome dilatato e teso, dolente, arti anteriori tenuti "a cavalletto" per cercare di ampliare il torace e facilitare la respirazione, atteggiamenti antalgici di falsa cifosi o, descritto molto più raramente e comunque mai da noi osservato, di "posizione di preghiera" (Broome CJ e Walsh VP, 2003; Rasmussen L, 2005; Radlinsky MG, 2013).
- Sviluppo scheletrico e costituzione: aumento di volume addominale alla ispezione, che quasi sempre tende ad aggravarsi durante la visita clinica (Radlinsky MG, 2013)
- Stato del sensorio: nelle prime fasi di manifestazione della sindrome l'animale si presenta comunemente agitato/ansioso, mentre con l'avanzare dello stato di shock può presentare abbattimento del sensorio fino ad uno stato comatoso (Glickman LT et al., 1998; Broome CJ e Walsh VP, 2003; Radlinsky MG, 2013).
- Mucose apparenti: possono presentarsi in modo molto variabile a seconda dell'avanzamento dello stato di shock, da pallide a molto congeste o cianotiche, da secche a molto umide, con un tempo di riempimento capillare generalmente rallentato (Rasmussen L, 2005).
- Temperatura: anche questo dato dipende molto dallo stato generale in cui si trova il paziente. Generalmente all'inizio è presente ipertermia o normotermia, ma nelle fasi più avanzate e gravi i pazienti si presentano ipotermici (Rasmussen L, 2005; Buber T et al., 2007).
- Polso: in genere inizialmente il polso è frequente e duro, ma quando subentrano bradicardia ed ipotensione causate dai fattori precedentemente evidenziati, il polso

si presenta flebile, con una frequenza diminuita e talvolta possono essere percepite aritmie; nelle situazioni più gravi il polso potrebbe non essere percepito, ad indicare una grave riduzione della pressione ematica (Rasmussen L, 2005; Mazzaferro E e Monnet E, 2013).

- Respiro: è normalmente presente tachipnea con un respiro superficiale, dovuti al dolore e al tentativo di contrastare l'acidosi metabolica in atto e la pressione dello stomaco dilatato sul diaframma (Rasmussen L, 2005; Mazzaferro E e Monnet E, 2013).

Effettuando un esame obiettivo particolare dell'apparato gastroenterico si possono invece notare le alterazioni riportate di seguito.

- dolorabilità alla palpazione addominale, con difficoltà o impossibilità di apprezzare altri organi oltre a stomaco e milza a causa della loro dilatazione e aumento di volume;
- presenza di sonorità timpanica alla percussione del fianco sinistro, dovuta alla raccolta di gas nel lume gastrico, che in caso di distensione imponente può anche arrivare a coinvolgere il fianco destro;
- rumore metallico ed eventuali borborigmi alla auscultazione (Rasmussen L, 2005; Broome CJ e Walsh VP, 2003; Mackenzie G et al., 2010; Radlinsky MG, 2013).

2.4 ESAMI COLLATERALI

Il quadro clinico descritto per la GDV è piuttosto simile a quello riscontrabile in corso di dilatazione gastrica non complicata da torsione dello stomaco, per cui il paziente è spesso sottoposto a diagnostica per immagini per confermare il sospetto diagnostico: l'esame

d'elezione è quello radiografico, con uno studio in doppia proiezione ortogonale. L' esame ecografico, invece, risulta non utile in quanto il gas raccolto nel lume gastrico determina una forte attenuazione del fascio ultrasonoro.

È sempre indicato eseguire inoltre uno screening emato-biochimico completo, comprensivo di esame emocromocitometrico, profilo biochimico, profilo coagulativo ed emogasanalisi, al fine di valutare le condizioni generali del paziente, capire come poterlo stabilizzare al meglio in previsione dell'intervento chirurgico e avere un aiuto nella formulazione di una prognosi. In questo capitolo verranno sintetizzati i rilievi fondamentali che si possono evincere dallo studio degli esami di laboratorio: una lettura più approfondita verrà poi data nel capitolo 3, dove si descriveranno i principali fattori prognostici studiati in letteratura veterinaria per questa sindrome, argomento principale di questa tesi.

2.4.1 Esame radiografico

L'esame radiografico in doppia proiezione, con decubito laterale destro e decubito dorsale, può fornire diverse indicazioni.

In corso di GDV l'area di proiezione gastrica appare notevolmente aumentata per la collezione di gas e liquido, ma questo aspetto può essere presente anche in corso di dilatazione dello stomaco non complicata da torsione: quando in proiezione latero-laterale in decubito destro è presente la così detta "double bubble", "doppia bolla", o "C rovesciata", ovvero una netta linea di compartimentazione che separa piloro e fondo gastrici, si può essere certi di trovarsi di fronte a un caso di GDV (Fig.2). Nella maggioranza dei casi questo segno radiografico è presente e porta ad una diagnosi certa, talvolta però sono necessarie ulteriori proiezioni e in alcuni casi può rimanere un dubbio diagnostico (Radlinsky MG, 2013; McGinnity J and Welsh EM, 2016).

In caso di pneumoperitoneo si deve sospettare l'avvenuta perforazione della parete gastrica, probabilmente in seguito a necrosi della stessa, indice prognostico fortemente negativo. Talvolta, tuttavia, una piccola quantità di aria libera in cavità peritoneale può essere un reperto parafisiologico se è stata eseguita una centesi percutanea evacuativa del contenuto gastrico prima di sottoporre il paziente allo studio radiografico (Radlinsky MG, 2013).

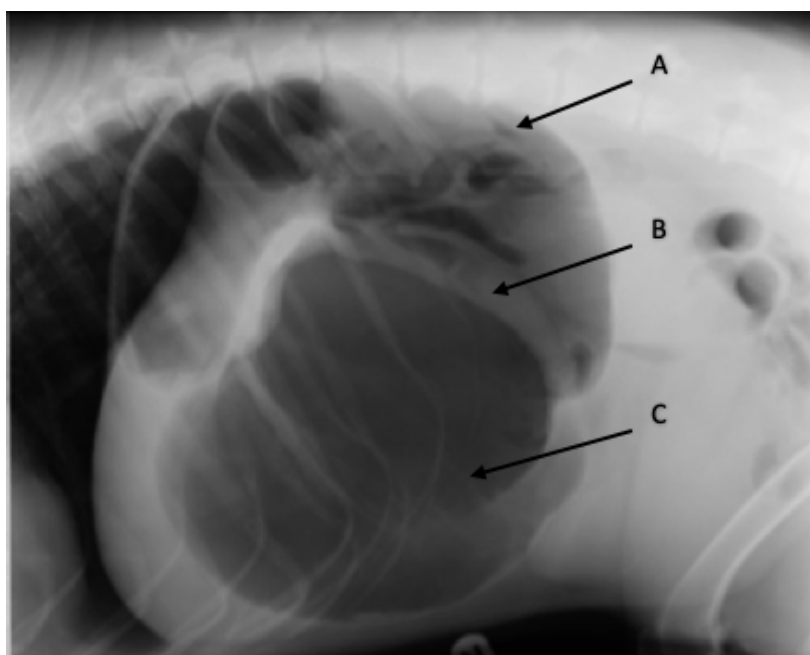


Fig. 2 – Radiografia addominale in proiezione latero-laterale in decubito destro di un cane con GDV. Si apprezza il segno di “double bubble”. A) Pilo dislocato; B) linea di compartimentazione; C) fondo gastrico dislocato.

(modificata da: Mc Ginnity J e Welsh EM, 2016)

2.4.2 Esame emocromocitometrico

I principali rilievi che si possono valutare con questo esame sono:

- presenza di emoconcentrazione (aumento del valore ematocrito) dovuta a collezione di fluidi nel lume gastrico, scialorrea e tachipnea;

- possibile riduzione del valore ematocrito in caso di imponente emorragia dovuta a rotture delle arterie gastriche brevi o epiploica per i fenomeni di trazione legati alla torsione dello stomaco;
- leucocitosi o leucopenia, dovute rispettivamente alla presenza di un leucogramma da stress o stato infiammatorio e a shock endotossico o scompensato;
- trombocitopenia in corso di CID o fenomeni di ipercoagulabilità (Rasmussen L, 2005; Radlinsky MG, 2013).

2.4.3 Profilo biochimico

Il profilo biochimico permette di avere un quadro generale della funzionalità dei vari organi e della gravità della compromissione multiorganica del paziente, come ad esempio la valutazione della funzionalità renale ed epatica. Insieme ad un profilo emogasanalitico (vedi oltre) permette anche di studiare l'assetto elettrolitico del paziente, fondamentale per la reintegrazione e rianimazione fluidica del cane. Importante è infine valutare la glicemia del paziente, che è generalmente aumentata rispetto ai range di normalità nelle prime fasi dello shock per azione delle catecolamine, e tende a calare nelle fasi più avanzate (Rasmussen L, 2005; Radlinsky MG, 2013).

2.4.4 Esame coagulativo

L'esame dei parametri della coagulazione è importante per la valutazione della gravità delle condizioni sistemiche del soggetto affetto da GDV ed è fondamentale per stabilire se ricorrere ad eventuali trasfusioni di plasma.

I parametri fondamentali da osservare sono il tempo di protrombina (PT), il tempo di tromboplastina totale attivata (aPTT), l'antitrombina III e i prodotti di degradazione della fibrina (FDP). In corso di GDV vengono rilasciati e attivati mediatori dell'infiammazione che possono dare inizio ad uno stato di sindrome da risposta infiammatoria sistemica (SIRS), durante la quale la capacità di emostasi viene intaccata in diversi modi, come ad esempio la diminuzione dell'attività dei fattori anticoagulanti plasmatici (come l'antitrombina). Questo fa sì che la coagulabilità sanguigna aumenti, come anche l'attività del sistema fibrinolitico, rendendo l'animale più a rischio di sviluppare coagulazione intravasale disseminata (CID) (Wada H, 2004; Uhrikova I et al., 2011). Alcuni studi hanno dimostrato che uno squilibrio dei parametri della coagulazione è positivamente correlato al rischio di presenza di necrosi gastrica e morte dell'animale, rappresentando quindi un fattore prognostico negativo: la CID può infatti causare danni diretti e indiretti agli organi, provocando eccessivi sanguinamenti difficili da controllare, inducendo quindi deterioramento dello stato di shock e complicazioni nelle procedure chirurgiche (Millis DL et al., 1993; Rasmussen L, 2005; Uhrikova I et al., 2013). Lo studio più recente a riguardo ha dimostrato che nella popolazione di cani presi in considerazione (22 soggetti), l'associazione di incremento di aPTT e FDP e riduzione della conta piastrinica mostra una sensibilità molto alta nel predire la presenza di necrosi gastrica (86%, 71% e 71% rispettivamente). Una differenza significativa tra i cani con e senza necrosi della parete dello stomaco è stata in realtà registrata solo per la conta piastrinica, motivo per il quale gli autori hanno indicato questo parametro come quello con maggiore specificità tra quelli considerati (86%) (Uhrikova I et al., 2013).

2.4.5 Emogasanalisi

Come affermato in precedenza, gli animali affetti da GDV presentano spesso gravi alterazioni metaboliche, con squilibri acido-base ed elettrolitici importanti. Spesso è

presente infatti una iniziale acidosi metabolica dovuta alla eccessiva produzione di lattati, che può essere aggravata in un secondo momento da acidosi respiratoria dovuta alla difficoltà di ventilazione. I valori del pH ematico possono, tuttavia, risultare normali a causa del fatto che l'acidosi metabolica può venir compensata in una fase iniziale da una alcalosi metabolica dovuta al sequestro di ioni idrogeno nel lume gastrico. Questi reperti vengono facilmente valutati eseguendo una emogasanalisi venosa o arteriosa, permettendo così poi una scelta più consapevole sulla reintegrazione e rianimazione fluidica del paziente. I parametri che quindi si riscontrano maggiormente alterati in questi casi sono: il pH (con le eventuali alterazioni sopra descritte); la pressione parziale di ossigeno (pO_2) e di anidride carbonica (pCO_2), che rispecchiano la capacità o meno di ossigenazione dei tessuti; un anion gap aumentato a causa dell'aumento della concentrazione plasmatica di lattati; una alcalosi metabolica ipocloremica, secondaria al sequestro dell'acido cloridrico a livello gastrico; alterazioni del sodio e del potassio, generalmente con fenomeni di ipokaliemia, che derivano dalla somministrazione di grandi volumi di fluidi a bassa concentrazione di potassio, dal trattenimento di fluidi nel lume gastrico o alla perdita degli stessi mediante eventuale vomito; l'eccesso di basi, che dipende dall'accumulo di basi o acidi forti, come in questi casi sono i lattati; e i bicarbonati, che tendono ad aumentare in circolo per tamponare l'acidosi (Rasmussen L, 2005; Radlinsky MG et al., 2013; Sharp CR e Rozanski EA, 2014).

CAPITOLO 3. SINDROME DILATAZIONE-TORSIONE GASTRICA: STABILIZZAZIONE DEL PAZIENTE E APPROCCIO TERAPEUTICO, POSSIBILI COMPLICANZE E TRATTAMENTO POSTOPERATORIO

3.1 STABILIZZAZIONE DEL PAZIENTE

I pazienti affetti da GDV sono sempre da considerare come urgenze vere e proprie a causa delle rapide e fatali complicazioni che possono svilupparsi. A seconda della gravità dello stato generale dell'animale, la sua stabilizzazione in vista dell'intervento chirurgico può richiedere diversi approcci, con l'obiettivo di cercare di correggere gli squilibri metabolici e le alterazioni d'organo eventualmente intervenute.

- Somministrazione di *ossigeno* per favorire gli scambi respiratori che, per le dinamiche spiegate precedentemente, possono risultare difficoltosi.
- Reperimento di uno o due accessi venosi: è sconsigliato, se possibile, di utilizzare gli arti posteriori, poiché la circolazione ematica a tale livello può risultare maggiormente rallentata a causa della pressione esercitata sulla vena cava caudale dallo stomaco dilatato (Rasmussen L, 2005; Formaggini L e Tommasini Degna M, 2005; Radlinsky MG et al., 2013).
- Fluidoterapia endovenosa: va iniziata quanto prima possibile per cercare di garantire una buona pressione sanguigna e ridurre al minimo gli effetti della stasi ematica, i fenomeni ischemici e lo shock. Si consiglia di iniziare con la somministrazione di cristalloidi isotonici (Ringer Lattato) ad un dosaggio antishock (60-90 mL/kg/h). Dopo un bolo fluidico iniziale che generalmente prevede la somministrazione di 20 mL/kg in 15-20 minuti, si rivaluta il paziente (Viganò F, 2006). Alcuni autori suggeriscono di

aggiungere la somministrazione di cristalloidi ipertonici (come la soluzione salina ipertonica al 7,5%) o di usare una combinazione di cristalloidi e colloidi (Dextrano 70 o amido idrossietilico – Hetastarch), i quali prolungano la durata d'effetto dei primi aumentando la pressione oncotica (Monnet E, 2003; Rasmussen L, 2005; Plunkett SJ, 2007).

- Se la risposta dell'organismo alla terapia fluidica non è soddisfacente, può rendersi necessario trattare il cane con *farmaci inotropi* quali dopamina (2-4 µg/kg/min IV) o dobutamina (2-6 µg/kg/min IV). È riportato che la dobutamina a basse dosi migliora la perfusione splenica, con potenziale beneficio della mucosa gastrica (Monnet E, 2003; Rasmussen L, 2005).
- Nel caso fossero presenti aritmie ventricolari nell'elettrocardiogramma, è possibile somministrare un bolo endovenoso di *lidocaina* (che ha anche azione analgesica) alla dose di 2 mg/kg, seguito da una infusione in CRI a 50 µg/kg/h (Viganò F, 2006). Alcuni studi hanno ipotizzato che la lidocaina possa fungere da procinetico favorendo l'attività della muscolatura liscia, migliorare la perfusione tissutale, ridurre l'infiammazione e la perdita di albumine e abbassando così il rischio di complicazioni postoperatorie e la durata dell'ospedalizzazione del paziente (Rasmussen L, 2005; Buber T et al., 2007; Bruchim Y et al., 2012).
- Poiché la GDV è una condizione piuttosto dolorosa per il paziente, la somministrazione di una adeguata terapia del dolore con *farmaci analgesici* è molto importante sia per il benessere del paziente che per la loro capacità di riduzione delle catecolamine e dei loro effetti. Si tende a prediligere gli oppiacei agonisti puri per la loro efficacia e reversibilità (Rasmussen L, 2005; Formaggini L e Tommasini Degna M, 2005; Viganò F, 2006; Plunkett SJ, 2007).
- La *decompressione gastrica* è una manovra di stabilizzazione indispensabile, che viene attuata per eliminare la compressione dovuta al gas contenuto nello stomaco,

con lo scopo di favorire la ripresa cardiocircolatoria e respiratoria del paziente; può essere effettuata attraverso una sonda orogastrica o mediante tecnica percutanea, utilizzando aghi di grosso calibro (10–14 G) o un trocar (Rasmussen L, 2005). Goodrich et al. hanno verificato che entrambi i metodi risultano efficaci e abbastanza sicuri (Goodrich ZJ et al., 2013).

La decompressione con sonda orogastrica viene accompagnata da lavanda gastrica, da effettuare con acqua tiepida. Il materiale refluo dallo stomaco deve essere valutato: colori come il rosso o il bruno, e la presenza di sangue possono essere indicativi di danni a carico della mucosa e necrosi. È consigliabile constatare sempre che le quantità di fluido che refluiscono siano circa corrispondenti a quelle immesse: se, al contrario, risultano inferiori, è possibile che sia presente una perforazione della parete gastrica e una perdita di fluido di lavaggio in cavità peritoneale, condizioni che impongono l'immediata sospensione del lavaggio. Se l'avanzamento del tubo risulta difficoltoso o impossibile, è consigliabile non forzarlo per il rischio di rompere la parete gastrica a livello di cardias: si preferisce, se necessario, eseguire una decompressione transcutanea ed entrare subito in sala chirurgica per cercare di riposizionare l'organo, eseguendo la lavanda gastrica successivamente alla manovra (Rasmussen L, 2005; Formaggini L e Tommasini Degna M, 2005; Plunkett SJ, 2007; Goodrich ZJ et al., 2013).

3.2 APPROCCIO TERAPEUTICO

Scopi della chirurgia sono controllare e/o ripristinare il corretto posizionamento dello stomaco, valutare la vitalità della parete ed intervenire in caso di necrosi (se possibile), valutare la vitalità della milza e la presenza di fenomeni trombotici a carico dei suoi vasi,

prevenire eventuali recidive (Rasmussen L, 2005). Il trattamento chirurgico prevede un accesso celiotomico esteso dall'appendice xifoidea fino ad alcuni centimetri cranialmente al pube e la detorsione dello stomaco (Rasmussen L, 2005; Radlinsky MG, 2013).

3.2.1 Valutazione della vitalità tissutale e tecniche di correzione in caso di necrosi

Una volta riposizionati correttamente stomaco, grande omento e milza, è fondamentale valutare il grado di vitalità di questi organi; nel caso siano presenti materiali gastrici non eliminabili attraverso la lavanda gastrica, è consigliabile eseguire una gastrotomia a livello di corpo dello stomaco, in una posizione che non interferisca con la successiva pesi dell'organo.

Nel caso di necrosi o infarti splenici considerevoli, o se sono presenti delle trombosi a livello dei vasi splenici, viene eseguita una splenectomia totale. Di norma si preferisce asportare la milza prima di detorcerla se sono palpabili trombi di grosse dimensioni, per evitare il rilascio in circolo di endotossine e sostanze vasoattive (Rasmussen L, 2005; Radlinsky MG, 2013).

L'ispezione della parete gastrica nella sua interezza è fondamentale per valutarne la vitalità. Come precedentemente descritto, la presenza di necrosi gastrica è uno dei fattori prognostici negativi più influenti in corso di GDV ed è quindi sostanziale riuscire ad identificarne la presenza e, dove possibile, trattarla in modo efficace. La localizzazione più frequente di necrosi gastrica è a livello di fondo e grande curvatura (Lantz GG et al. 1984; Radlinsky MG, 2013). Il grado di vitalità viene soggettivamente determinato osservando il colore della sierosa, lo spessore e la consistenza della parete. Colori che vanno dal rosa al rosso sono generalmente indici di normale vitalità parietale, mentre variazioni tendenti al grigio, bruno, giallastro, verdastro o nero sono indici di necrosi. Mediante palpazione si valutano anche la consistenza e lo spessore della parete: la percezione di friabilità e

assottigliamento è indicatore di scarsa vitalità tissutale. È anche possibile eseguire una incisione a parete parziale dello spessore della parete per verificare la presenza o assenza di sanguinamento (Matthiesen DT, 2001). Oltre a queste tecniche piuttosto soggettive, sono state proposte negli anni modalità più oggettive di apprezzamento della vitalità della parete, che tuttavia non hanno dimostrato una attendibilità superiore rispetto alle valutazioni macroscopiche effettuate dal chirurgo in sede intraoperatoria. I primi suggerimenti di iniezione intravenosa di fluoresceina e all'analisi della tensione di ossigeno superficiale (Wheaton LG et al., 1986; Komtebedde J et al., 1990; Matthiesen DT, 2001), sono infatti stati rimpiazzati dalla Laser Doppler Flussimetria (LDF), che può essere usata anche in sede intraoperatoria e permette di valutare in modo piuttosto preciso la funzionalità del microcircolo, così da evidenziare eventuali aree ischemiche o necrotiche con maggiore sicurezza (Monnet E et al., 2006).

Quando si è in presenza di necrosi gastrica (o di vitalità tissutale scarsa o dubbia), è necessario effettuare una gastrectomia o invaginare l'area colpita. La tecnica di *invaginamento* (Fig.3) prevede che l'area non vitale sia introflessa, così che si separi dal tessuto vitale e venga digerita, mentre i tessuti sani circostanti cicatrizzano. Si tratta di una tecnica piuttosto sicura poiché non richiede l'apertura del lume gastrico: tuttavia, si potrebbero creare fenomeni occludenti secondari ad eccessiva quantità di tessuto invaginato o ad eccessivo sanguinamento (Rasmussen L, 2005; Parton AT et al., 2006).

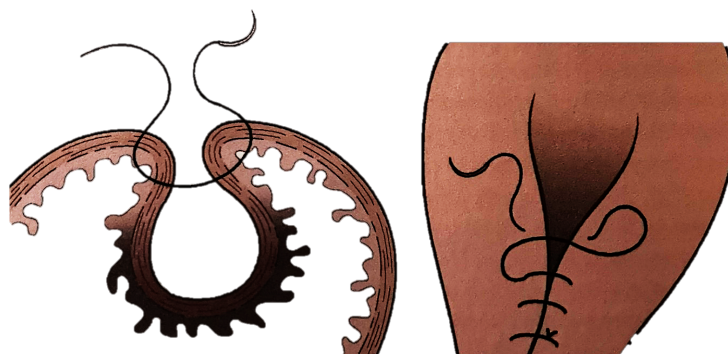


Fig.3 – Rappresentazione schematica della tecnica di invaginamento gastrico (Modificata da Radlinsky MG, 2013)

3.2.2 Trattamenti preventivi per eventuali recidive

Il rischio di recidiva di GDV è piuttosto elevato, per questo è fondamentale assicurare una coalescenza tra antro pilorico e parete addominale destra, per evitare che lo stomaco possa nuovamente ruotare su se stesso. Questo intervento non previene tuttavia eventuali dilatazioni successive.

In letteratura sono descritte diverse tecniche di gastropessi, che verranno descritte molto brevemente.

- La gastropessi incisionale (Fig.4) prevede l'esecuzione di una incisione a livello di parete addominale destra, dietro all'ultima costa, della lunghezza di un paio di centimetri circa, che va suturata ad una incisione affine eseguita a livello pilorico. Questo induce la formazione di una tenace aderenza che difficilmente viene meno nel tempo anche se sono state descritte alcune recidive a distanza di mesi (Rasmussen L, 2005).

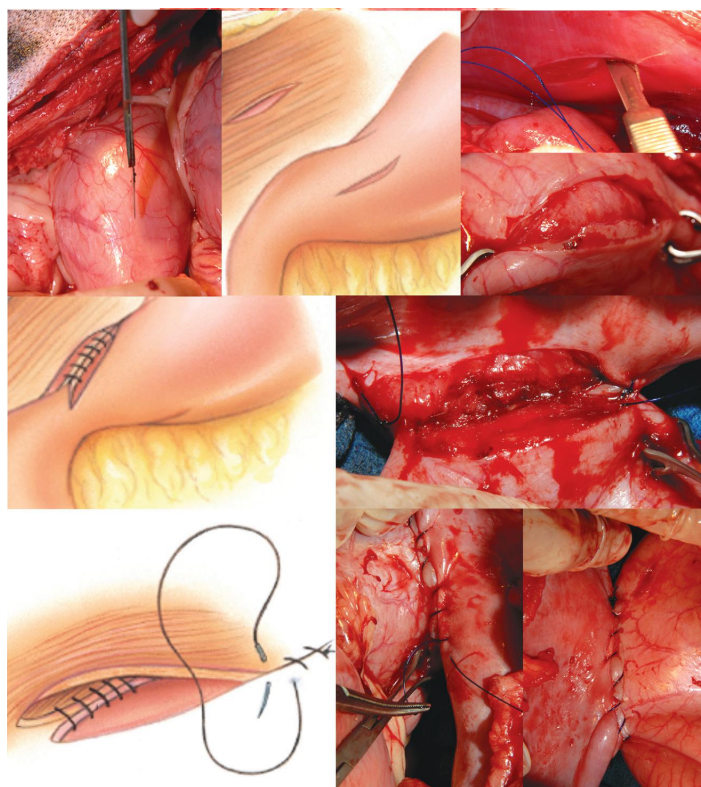


Fig.4 – Illustrazione della tecnica di gastropessi incisionale (Foto da: Watson K, Tobias KM. *Incisional gastropexy*. Vet Med 101:213–218, 2006. Disegni da: Fossum T, editor: *Small animal surgery*, ed 3, St Louis, 2002, Mosby/Elsevier)

- La gastropessi circumcostale (Fig.5) è più complicata rispetto alle altre, ma determina una maggiore coesione tra stomaco e parete addominale. Viene eseguita preparando un lembo di circa 5-6cm di lunghezza che comprende la sierosa e lo strato muscolare a livello di antro pilorico e che viene fatta passare intorno ad una costa undicesima o dodicesima costa destra (Radlinsky MG, 2013).

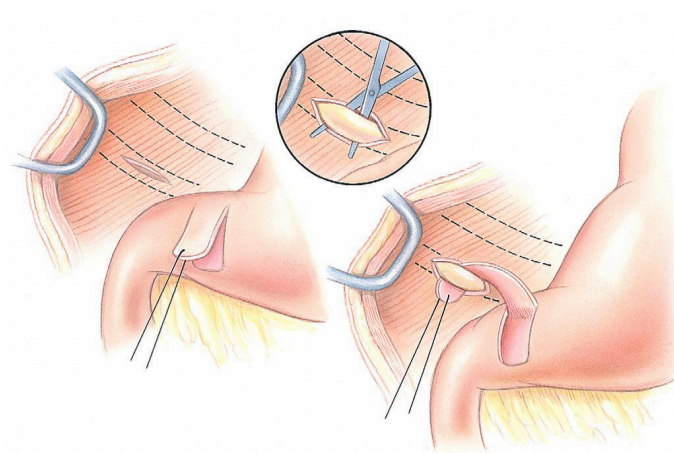


Fig.5 – Illustrazione della tecnica di gastropessi circumcostale (Modificata da: Fossum T, editor: Small animal surgery, ed 3, St Louis, 2007, Mosby/Elsevier)

- La gastropessi con ansa a cintura, o belt loop (Fig.6), è simile alla precedente, con la differenza che il flap antrale viene fatto scorrere attraverso un tunnel creato sulla parete addominale destra e non sotto la costa (Rasmussen L, 2005; Radlinsky MG, 2013).

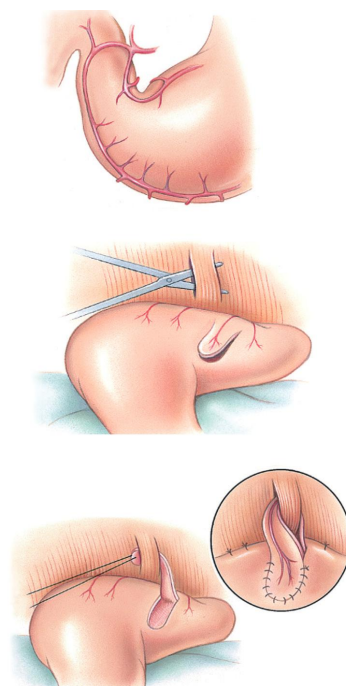


Fig 6 – Illustrazione della tecnica di gastropessi con ansa a cintura (Disegni da: Fossum T, editor: Small animal surgery, ed 3, St Louis, 2007, Mosby/Elsevier.)

Altre tecniche possibili sono la gastropessi assistita laparoscopicamente o endoscopicamente, laparoscopica e minilaparotomica, che vengono tuttavia più comunemente effettuate a scopo preventivo e non in corso di GDV (Rasmussen L, 2005; Radlinsky MG, 2013; Allen P and Paul A, 2014).

3.4 VALUTAZIONI E TRATTAMENTO POSTOPERATORI

Poiché il periodo postoperatorio può prevedere complicanze diverse di varia gravità (peritonite settica e sepsi in caso di necrosi gastrica, perforazione gastrica o inadeguata rimozione del tessuto devitalizzato, CID, polmonite ab ingestis, lesioni da ri-perfusione, aritmie cardiache) (Buber T et al., 2007; Radlinsky MG, 2013), i pazienti devono rimanere ospedalizzati e attentamente monitorati (Radlinsky MG, 2013; McGinnity J e Welsh EM, 2016).

Generalmente l'animale mostra appetito già dopo 12-24 ore dall'intervento chirurgico: è consigliabile somministrare acqua e cibo umido facilmente digeribile, suddividendo la razione giornaliera in più pasti in modo da non rischiare di distendere lo stomaco e indurre vomito. Una terapia gastroprotettiva ed eventuali antiemetici centrali possono essere utili per limitare la possibile gastrite secondaria alle alterazioni vascolari della mucosa (McGinnity J e Welsh EM, 2016).

La comparsa di aritmie ventricolari è un'evenienza registrata abbastanza frequentemente; la causa non è chiara, ma sembra possano influire il fattore depressante cardiaco, l'ischemia miocardica, la diminuzione della gittata cardiaca ed eventuali squilibri elettrolitici. In questa ultima evenienza può essere sufficiente mantenere il normale stato di idratazione e correggere l'ipokaliemia per risolvere il problema. Negli altri casi in cui sia necessario trattare queste aritmie vengono utilizzati dei farmaci antiaritmici come la lidocaina.

Monitorare l'eventuale comparsa di danni da ripercussione è fondamentale per cercare di garantire una buona prognosi. Le lesioni da ripercussione sono definibili come le conseguenze sull'organismo dovute alla produzione di radicali liberi dell'ossigeno dopo la ripresa del circolo sanguigno in organi che hanno precedentemente sofferto di privazione di ossigeno per eventi ischemici. Queste molecole possono provocare gravi danni ai tessuti, essendo potenzialmente in grado di indurre morte cellulare (Bruchim Y e Kelmer E, 2014; McGinnity J e Welsh EM, 2016). I segni clinici più frequenti che si possono riscontrare sono ipotensione refrattaria ai trattamenti, aritmie cardiache, insufficienza renale acuta, CID, dolore addominale eccessivo (McMichael M e Moore R, 2004).

Per contrastare il dolore si può iniziare con la somministrazione di oppioidi, ma questi farmaci possono contribuire alla stasi gastrica e all'ileo funzionale, aumentando il rischio di vomito e il prolungamento del periodo di ospedalizzazione. Per cercare di ridurre questi

effetti si considera di solito una associazione tra oppioidi, a dosaggi minori, e lidocaina in infusione continua (Radlinsky MG, 2013; Viganò F, 2006; McGinnity J e Welsh EM, 2016).

CAPITOLO 4. SINDROME DILATAZIONE-TORSIONE GASTRICA: FATTORI PROGNOSTICI E PREDITTIVI DI NECROSI GASTRICA E SOPRAVVIVENZA

Il tasso di mortalità in corso di GDV riportato in letteratura veterinaria è piuttosto alto: la bibliografia al riguardo riporta un range variabile dal 10% al 43% (43% in Muir WW, 1982; 15% in Brockman DJ et al., 1995; 18% in Brouman JD et al., 1996; 16% in Beck JJ et al., 2006; 27% in Buber T et al., 2007; 10% in Mackenzie G et al., 2010; 23% in Zacher LA et al., 2010; 14% in Aona BD et al., 2017).

La presenza di necrosi gastrica risulta essere correlata ad un significativo aumento della mortalità (25%-59%) (Muir WW, 1982; Brouman JD et al., 1996; Glickman LT et al., 1998; Buber T et al., 2007; Zacher LA et al., 2010); nel lavoro di Green TI et al. (2011) è stata addirittura descritta come l'unica variabile in grado di inficiare in modo significativo la probabilità di sopravvivenza dei cani inclusi nello studio.

L'elevato tasso di mortalità e la relativa difficoltà di individuare i fenomeni necrotici a carico della parete gastrica in sede diversa da quella chirurgica, hanno giustificato nell'ultimo decennio il crescente interesse nella ricerca di indicatori prognostici e predittivi che possano indirizzare le scelte del veterinario e del proprietario nell'ottica di tutelare il benessere dell'animale e di evitarne inutili sofferenze. Il risultato di tale ricerca è stata la valutazione di diversi fattori clinici e clinicopatologici: di questi, alcuni hanno trovato un maggior consenso tra gli autori, mentre altri sono ancora ampiamente oggetto di discussione.

La bibliografia a riguardo dei fattori prognostici osservabili direttamente alla visita clinica è per lo più poco recente, probabilmente perché un tempo era più complesso eseguire alcuni esami laboratoristici e studi analitici e comparativi basati su di essi, quindi i fattori prognostici più valutabili e studiabili erano, appunto, quelli clinici, mentre negli ultimi anni c'è stata una

progressiva sostituzione di questi ultimi con parametri laboratoristici per cercare di ottenere dei dati sempre più oggettivi.

A questo riguardo, alcuni parametri, come ad esempio i lattati plasmatici, sono stati approfonditamente studiati con vari lavori, mentre altri fattori sono stati valutati solo da singoli lavori, che talvolta non hanno prodotto risultati che giustificassero una continuazione o un ampliamento degli studi relativi.

Verranno di seguito citati i principali fattori prognostici clinici e laboratoristici sulla base di una attenta analisi critica della letteratura relativa a questo argomento.

4.1 FATTORI PROGNOSTICI CLINICI

Aritmie cardiache perioperatorie - La presenza di aritmie cardiache perioperatorie è riscontrata piuttosto frequentemente in corso di GDV, con una percentuale di comparsa variabile dal 42% al 68% (Muir WW, 1982; Schober KE et al., 2002; Aona BD et al., 2017). La causa descritta come più probabile è un'ischemia del miocardio (Brouman JD et al., 1996; Sharp CR and Rozanski EA, 2014), che determina la generazione di foci ectopici di attività elettrica ed è dovuta presumibilmente ad una riduzione del flusso coronarico, come dimostrato da uno studio su cani in cui è stata sperimentalmente indotta GDV (Horne WA et al., 1985).

In realtà, questo fattore prognostico è ancora oggetto di discussione. Le aritmie non sono risultate in correlazione statisticamente significativa con la mortalità nel lavoro di Brockman DJ et al. del 1995, mentre è stata stabilita una associazione con un aumento della mortalità del 32-38% in due studi successivi (Brouman JD et al., 1996; Beck JJ et al., 2006). In particolare nello studio di Beck et al. (2006) è stato notato che i pazienti che avevano richiesto splenectomia o gastrectomia erano maggiormente a rischio di sviluppare aritmie e

CID, ponendoli maggiormente a rischio di morte: l'ipotesi che gli autori hanno supposto per questo meccanismo è che questi pazienti avessero una risposta infiammatoria sistemica più grave rispetto a quelli in cui questi interventi chirurgici non erano necessari e che fossero quelli in cui si erano sviluppati fenomeni ipotensivi più gravi. Anche Mackenzie et al. (2010) hanno riportato che le aritmie ventricolari intermittenti preoperatorie erano associate in modo significativo con un aumento della mortalità, a differenza di quanto si verificava in caso di tachicardia ventricolare preoperatoria, normalmente considerata una condizione più grave; la situazione opposta si verificava invece nel periodo postoperatorio. Gli autori non hanno formulato ipotesi per spiegare questi fenomeni (Mackenzie G et al., 2010).

Bruchim Y et al. (2012), in uno studio che valutava l'importanza del trattamento con lidocaina nei cani affetti da GDV, riportano che le aritmie cardiache non hanno rappresentato fattore di rischio per la mortalità nella popolazione considerata; sottolineano comunque che nei pazienti trattati con lidocaina la percentuale di aritmie registrata è risultata notevolmente inferiore (12%) a quella del gruppo di controllo non trattato (38%) (Bruchim Y et al., 2012). Più recentemente, anche Aona BD et al. nel 2017 non hanno stabilito una evidente correlazione tra mortalità e aritmie, pur registrando ecograficamente un aumento dello spessore della parete cardiaca in cani deceduti per GDV.

In generale si rileva però una certa disparità numerica tra gli studi più recenti. Beck JJ et al. (2006) presero in esame 166 cani, di cui 12 hanno sviluppato aritmie preoperatorie, 43 intraoperatorie e 29 a seguito dell'intervento; Mackenzie G et al. (2010) arruolarono 306 cani, di cui solo 16 hanno dimostrato l'insorgenza di aritmie preoperatorie e 133 postoperatorie; nello studio di Bruchim Y et al. (2012), tra i 130 cani considerati, 38 e 28 soggetti avevano registrato aritmie pre- o postoperatorie, rispettivamente; più recentemente, Aona BD et al., (2017) hanno incluso solo 22 cani, di cui 15 avevano manifestato aritmie prima della chirurgia.

Un altro aspetto su cui si è discusso è il momento di insorgenza della tachicardia. In linea di massima, in tutti gli studi, si è rilevata concordanza sul fatto che le aritmie preoperatorie hanno un impatto superiore sulla sopravvivenza dell'animale rispetto che quelle postoperatorie, probabilmente perché i pazienti che sviluppano questo tipo di problema nel preoperatorio sono quelli la cui condizione generale è più grave e manifestano uno stato di SIRS (Brouman JD et al., 1996; Mackenzie G et al., 2010; Bruchim Y et al., 2012; Aona BD et al., 2017).

Tutti gli studi riportati riportano come limite principale la ridotta numerosità delle popolazioni indagate: per questo motivo, rimandano a futuri lavori prospettici eventuali considerazioni definitive sulla correlazione tra aritmie cardiache e mortalità.

Splenectomia e/o gastrectomia parziale - L'esecuzione di splenectomia e/o gastrectomia parziale legata alla presenza di necrosi gastrica è un altro fattore associabile ad un aumento della mortalità (Brouman JD et al. 1996; Zatloukal J et al., 2005; Mackenzie G et al., 2010). Mackenzie G et al. (2010) riportano una mortalità pari al 9% in seguito a gastrectomia parziale, al 15% in seguito a splenectomia e al 20% in seguito a combinazione delle due tecniche: si tratta di dati notevolmente inferiori a quelli riportati da Brouman JD et al. nel 1996, dove il tasso di mortalità era del 35%, 32% e 50% rispettivamente. Tale differenza potrebbe essere dovuta al miglioramento delle tecniche chirurgiche, ma soprattutto all'affinamento delle tecniche di stabilizzazione perioperatoria dei pazienti verificatosi nei 15 anni intercorsi tra i due lavori. Nello studio di Zatloukal J et al. del 2005, gli autori asseriscono che la frequenza con cui era stato necessario eseguire la splenectomia era direttamente proporzionale al tempo trascorso tra insorgenza dei sintomi e presentazione in clinica, e che questo intervallo temporale fosse il fattore più influente sulla mortalità dei soggetti considerati.

L'indagine di Beck JJ et al. condotta nel 2006 sui fattori di rischio nei cani con GDV, si trova invece in disaccordo: né la gastrectomia parziale, né la splenectomia hanno assunto un ruolo di rischio per la sopravvivenza dei pazienti della popolazione inclusa. Entrambe le opzioni chirurgiche, tuttavia, sono risultate associate in modo significativo con l'insorgenza di complicanze postoperatorie, in particolare la prima con insorgenza di sepsi e peritonite, ed entrambe con aritmie e coagulazione intravasale disseminata (CID). Secondo gli autori, una migliorata capacità di riconoscere e trattare tali complicazioni e strumentazioni più specialistiche (come ad esempio l'uso di "stapling devices"), potrebbero essere la spiegazione del fatto che gastrectomia e splenectomia non avevano influito in modo significativo sulla sopravvivenza dei cani considerati. Tuttavia, anche in questo caso, la combinazione di gastrectomia e splenectomia era associata con un outcome negativo, probabilmente per il fatto che i cani che richiedevano tale trattamento si trovavano in uno stadio più avanzato e grave della sindrome (Beck JJ et al., 2006). Va inoltre segnalato che una mortalità molto alta (4 cani su 10) è stata riscontrata nei pazienti che hanno subito una gastrectomia a livello di cardia. Gli autori giustificavano questo rilievo in parte per le difficoltà tecniche legate all'approccio a questa regione dello stomaco, in particolare se è coinvolta anche la porzione più distale dell'esofago, e in parte per il fatto che per i soggetti con necrosi a tale livello venivano più frequentemente proposta e accettata l'eutanasia a causa delle complicazioni associate alla resezione del cardia (Beck JJ et al., 2006).

Durata dei segni clinici - L'influenza della durata dei segni clinici sul rischio di morte dell'animale è stata piuttosto dibattuta. Uno studio su cani con GDV provocata sperimentalmente aveva denotato che il trascorrere delle ore dall'induzione del problema portava ad un progressivo peggioramento del danno parietale gastrico, tanto da riportare una grave emorragia serosale a livello di corpo e fondo dello stomaco 8 ore dopo l'induzione di un volvolo di 360° (Lantz GG et al., 1984). I primi studi clinici su patologia spontanea

(Zatloukal J et al., 2005; Beck JJ et al., 2006; Buber T et al., 2007) si trovavano in accordo e riportavano che un prolungato periodo di durata dei segni clinici (5-6 ore) era direttamente correlato ad una mortalità più elevata.

Successivamente, l'indirizzo di pensiero si spostò sul concetto che il tempo intercorso tra l'apparizione dei primi segni clinici e l'arrivo in clinica, come anche la durata dell'anestesia e la durata del periodo trascorso tra l'ammissione e l'inizio della procedura chirurgica non influenzavano l'outcome (Mackenzie G et al., 2010). Una spiegazione che alcuni autori ipotizzavano per questo dato inatteso è che i pazienti con GDV più stabili alla visita clinica venivano sottoposti ad intervento chirurgico meno rapidamente e quindi dopo una fluidoterapia completa, mentre i cani in stadio più grave e avanzato venivano sottoposti ad intervento più rapidamente per minimizzare, per quanto possibile, la durata della sofferenza ischemica d'organo (Mackenzie G et al., 2010).

Altri parametri clinici - Altri parametri presenti alla visita clinica, come temperatura rettale inferiore a 38°C, presenza di danno renale acuto, animale in decubito e alterazioni dello stato mentale, sono stati nel tempo citati come indicatori di prognosi negativa (Glickman LT et al., 1998; Buber T et al., 2007). Una bassa temperatura rettale, ad esempio, come anche la presenza di danno renale acuto, possono essere sintomo di ridotta perfusione sistemica, di ridotto ritorno venoso e shock: potrebbero anche riflettere la gravità dell'ostruzione al circolo venoso dovuta alla torsione gastrica ed essere proporzionale alla durata dell'ipoperfusione (Glickman LT et al., 1998; Buber T et al., 2007). Le alterazioni del sensorio spesso riflettono un grave stato di shock e/o di alterazioni metaboliche: nella popolazione canina inclusa nello studio di Glickman LT et al. (1998), la gravità delle condizioni cliniche riscontrate alla presentazione in clinica è risultata il fattore prognostico più attendibile per la previsione di decesso nei primi 7 giorni dopo l'insorgenza della sindrome (Glickman LT et al., 1998).

4.2 FATTORI PROGNOSTICI (MARKERS) LABORATORISTICI

Lattati ematici – Sono stati i primi e più approfonditamente valutati markers prognostici: la loro concentrazione plasmatica e la loro clearance durante la rianimazione del paziente rimangono ancora maggiormente utilizzate nella pratica clinica, nonostante la loro reale attendibilità non risulti univocamente riconosciuta in letteratura veterinaria (Green TI et al., 2011; Mooney E et al., 2014; De Papp E et al. 1999, Zacher LA et al., 2010; Israeli I et al., 2012; Spinella G et al., 2018). I lattati sono ioni negativi che derivano dal processo di riduzione del piruvato in condizioni di scarsa disponibilità di ossigeno. Durante la glicolisi, all'interno del citoplasma cellulare, il glucosio viene trasformato in piruvato, con la produzione di due moli di ATP (Adenosin-Trifosfato) a partire da una di glucosio e con la concomitante trasformazione del NAD^+ in NADH. A questo punto le possibili strade sono: glicolisi aerobia o anaerobia. Nel primo caso, il piruvato entra all'interno dei mitocondri, si attivano il ciclo dell'acido tricarbossilico e la fosforilazione ossidativa e vengono prodotte 36 moli di ATP, con contemporanea ritrasformazione di NADH in NAD^+ . La glicolisi anaerobia, invece, prevede che il piruvato si riduca a lattato nel citosol cellulare, consumando ioni idrogeno (H^+) e producendo NAD^+ e ATP: tale processo consente di soddisfare in modo rapido la richiesta energetica cellulare, per lo meno temporaneamente (Viganò F, 2006; Mooney E et al., 2014).

La produzione di lattati avviene in modo fisiologico per permettere la continuazione della glicolisi e la produzione di energia quando la richiesta cellulare è maggiore della capacità di produzione energetica mitocondriale. Inoltre, quando ATP viene convertita in ADP (Adenosin-Difosfato) per rilasciare energia, ioni H^+ vengono prodotti e accumulati a livello di citosol in condizioni di scarsa presenza di ossigeno. La trasformazione da lattato a piruvato è fondamentale per consumare tali ioni; la riduzione dell'acidosi viene ulteriormente

favorita dal fatto che i lattati sono cotrasportati con gli ioni idrogeno all'esterno dell'ambiente cellulare (Viganò F, 2006; Mooney E et al., 2014).

Una volta nel circolo sanguigno, i lattati vengono trasportati a livello epatico, dove sono utilizzati per il processo di gluconeogenesi e ritrasformati in glicogeno tramite un processo ossidativo, che prevede il consumo di ioni H^+ e la produzione di anidride carbonica (CO_2), eliminata attraverso la ventilazione. Per questi motivi appare chiaro perché, in corso di iperlattatemia, una fluidoterapia aggressiva e l'ossigenoterapia risultino fondamentali per aumentare la disponibilità di ossigeno e basi (Viganò F, 2006; Mooney E et al., 2014).

Le cause di iperlattatemia possono essere molteplici e tale condizione può essere categorizzata come di tipo A o B. L'iperlattatemia di tipo A viene descritta in caso di segni clinici di scarsa presenza di ossigenazione tissutale. Una intensa attività muscolare (esercizio fisico intenso, tremori, crisi convulsive) produce una carenza relativa di ossigeno e induce una iperlattatemia fisiologica e transitoria, che dovrebbe andare in remissione spontanea circa 30-60 minuti dopo la cessazione dell'attività muscolare stessa (Robergs RA et al., 2004; Rovira S et al., 2007; Mooney E et al., 2014). Questo processo è stato studiato in medicina sportiva veterinaria, valutando quale fosse il grado di iperlattatemia registrata nei Greyhounds da corsa a seguito di esercizio: il range riportato variava da 4.5 mmol/L a 30 mmol/L (Pieschl RL et al., 1992). Condizione più grave e che normalmente richiede un intervento terapeutico è invece l'assenza assoluta di ossigeno a livello tissutale causata da una ipoperfusione globale, che può verificarsi in corso di shock (ipovolemico, cardiogeno, ostruttivo, etc). Quando non sono presenti segni clinici di scarsa disponibilità di ossigeno si parla di iperlattatemia di tipo B, che può a sua volta essere suddivisa in tipo B₁ (associata ad una causa sottostante come sepsi o risposta infiammatoria sistemica –SIRS), tipo B₂ (associata alla presenza di tossine o alla somministrazione di farmaci quali adrenalina e noradrenalina, che causano vasocostrizione ed un aumento della glicolisi) e

tipo B₃ (derivante da un disordine metabolico ereditario o congenito) (Viganò F, 2006; Mooney E et al., 2014).

L'iperlattatemia è spesso riscontrata in corso di GDV, probabilmente dovuta ad un insieme di diversi fattori. Sicuramente si può riconoscere un aumento della lattatemia di tipo A, secondaria a ipoperfusione globale che può a sua volta derivare da ipovolemia provocata dal sequestro intragastrico di fluidi, da una componente ostruttiva secondaria ad un ridotto ritorno venoso, da uno shock maldistributivo, o dalla combinazione di questi eventi (Wingfield et al., 1976; Mooney E et al., 2014). Una iperlattatemia di tipo B₁ può essere presente a causa di concomitante sepsi, shock settico o sindrome da risposta infiammatoria sistemica (SIRS): queste condizioni possono derivare dalla traslocazione batterica o dalla batteriemia che si possono verificare in conseguenza della necrosi gastrica e dell'ischemia gastro-intestinale (Mooney E et al., 2014). I cani affetti da GDV presentano spesso anche necrosi splenica e gastrica, causa di produzione di lattati: tali ioni possono entrare in circolo quando l'apporto sanguigno è ripristinato (ad esempio durante la decompressione gastrica, di cui si troveranno indicazioni nel capitolo successivo) (Mooney E et al., 2014).

Nel corso degli scorsi venti anni sono stati numerosi gli studi che hanno cercato di indagare l'efficacia della concentrazione ematica di lattati e la loro clearance come validi fattori predittivi della presenza di necrosi gastrica e prognostici di sopravvivenza dei pazienti affetti da GDV. Questa indagine è stata oggetto di ricerca e studio anche durante il mio corso di dottorato, pertanto questo argomento verrà ampliato nella parte sperimentale della tesi, al capitolo 5.

Troponina cardiaca - Le troponine cardiaca I e T sono proteine di legame dell'apparato contrattile cardiaco, utili alla regolazione dell'interazione calcio-mediata tra actina e miosina. Sia in medicina umana che in quella veterinaria è stato dimostrato il loro valore in termini di

sensibilità e specificità come biomarkers di danno cardiaco (Collinson PO et al., 2001; Schober KE et al., 2002).

La GDV, come precedentemente affermato, determina una riduzione importante dell'output cardiaco, della pressione arteriosa e del flusso coronarico, con possibili conseguenti danni a carico del tessuto cardiaco e aritmie ventricolari. Nello specifico, come evidenziato in uno studio del 2002, i cani deceduti (16 su 85) mostravano una concentrazione di troponina cardiaca I e T significativamente superiori (24.9 e 0.18 ng/mL rispettivamente) in confronto alle concentrazioni dei sopravvissuti (2.05 e <0.01 ng/mL) (Schober KE et al., 2002). Nello studio riportato, le troponine erano correlabili a queste alterazioni cardiache: pazienti con problemi cardiaci evidenti all'ECG nel periodo postoperatorio, anche potenzialmente fatali, mostravano livelli ematici di troponina cardiaca I e T più elevati. In particolare la troponina I sembrava più sensibile nell'identificazione di danni a carico del tessuto cardiaco rispetto alla C, il cui aumento, però, è di norma correlabile ad un danno miocardico più grave (Schober KE et al., 2002). Uno studio del 2015 effettuato su cani affetti da SIRS ha dimostrato che, nella popolazione di cani inclusi, una concentrazione di troponina cardiaca I aumentata era fortemente associata ad un outcome negativo (Hamacher L et al., 2015). In uno studio del 2017, è stato notato che i cani con GDV che registravano i livelli di troponina I più elevati avevano molta più probabilità di sviluppare gravi aritmie, tuttavia in quest'ultimo studio non è stata fatta una correlazione tra questo dato e il rischio di non sopravvivenza (Aona BD et al., 2017).

Mioglobina sierica - I livelli di mioglobina sierica al momento della diagnosi di GDV sembrano dare indicazioni sull'outcome, esprimendo tuttavia una sensibilità e specificità moderate. La mioglobina, infatti, è una proteina presente soprattutto a livello di muscolatura striata e cardiaca che si libera in circolo a seguito di danni cellulari causati da scarsa perfusione dei tessuti, shock o traumi generici (Vaidya HC, 1992; Adamik KN et al., 2009). Uno studio su

una popolazione di 72 cani con GDV del 2009 ha valutato l'efficacia della mioglobina come indicatore prognostico e la sua correlazione con la mortalità, registrandone la concentrazione su prelievi eseguiti al momento della diagnosi (Mb0) e dopo 24 (Mb24) e 48 ore (Mb48). Applicando le opportune indagini statistiche è stato rilevato che il 90% dei pazienti che registravano un valore di Mb0 inferiore a 168ng/mL (considerato come valore soglia) sono sopravvissuti, mentre il 50% di quelli che superavano tale concentrazione sierica sono andati incontro a morte, registrando una specificità dell'85% e una sensibilità del 60% (Adamik KN et al., 2009). I dati ottenuti per Mb24 e Mb48 non sono risultati particolarmente indicativi in quanto, secondo gli autori, l'incremento dei livelli di mioglobina nel periodo postoperatorio può essere dovuto a numerosi fattori non necessariamente legati a danni miocardici o fenomeni potenzialmente fatali, come una ridotta escrezione renale, lesioni o infiammazione muscolare dovuti alla chirurgia o riperfusione del miocardio (Adamik KN et al., 2009).

Pepsinogeno-A sierico - Il pepsinogeno è la forma inattiva dell'enzima pepsina; è un proenzima secreto tipicamente dalle cellule principali gastriche e rilasciato nel lume dello stomaco, dove viene attivato dall'acido cloridico: la forma attivata è utile alla digestione delle proteine grazie alla sua attività proteasica. Una piccola parte (circa 1%) del pepsinogeno, tuttavia, ridiffonde attraverso la mucosa gastrica ed entra nella circolazione sistemica (Israeli I et al., 2012). L'idea di valutare l'attendibilità prognostica del pepsinogeno nel cane con GDV deriva dalla medicina umana, dove si è dimostrato marker affidabile per la valutazione della salute gastrica: è stato usato, ad esempio, come marker di infezione da *Helicobacter pylori*, come fattore indicativo di gastrite e per la detenzione precoce di neoplasie gastriche (Gritti I et al., 2000; Suchodolski JS et al., 2002; Miki K, 2006; Mukoubayashi C et al., 2007; di Mario e Cavallaro, 2008).

Anche il pepsinogeno–A sierico è stato associato in modo statisticamente significativo alla gravità delle lesioni della parete gastrica in corso di GDV, riportando tuttavia una efficienza moderata come fattore prognostico (Israeli I et al., 2012). Il 20% della popolazione considerata in tale studio (13 cani su 66), infatti, presentava un aumento del pepsinogeno–A associato direttamente alla gravità del problema e statisticamente connesso con un outcome sfavorevole: all’aumento dei livelli sierici corrispondeva una maggiore incidenza di necrosi gastrica e mortalità più elevata. Nello specifico, nella popolazione inclusa in tale studio non è stata riscontrata una differenza significativa tra i valori mediani del gruppo di controllo sano (304 µg/L; 18-848 µg/L) e quelli del gruppo con GDV (397 µg/L; 37-5410 µg/L); i cani deceduti, invece, hanno dimostrato valori mediani (746 µg/L; 128-5410 µg/L) significativamente più elevati di quelli sopravvissuti (346 µg/L; 36-1575 µg/L). Poiché il pepsinogeno è prodotto e stoccato a livello di cellule della mucosa gastrica, è opinione degli autori che il suo aumento nel circolo sanguigno in corso di necrosi gastrica sia dovuto ad una perdita dalle cellule danneggiate all’interno del lume gastrico, con successivo riassorbimento, o ad un aumento della permeabilità cellulare con conseguente passaggio in circolo, o ad una combinazione delle due teorie. A causa della bassa numerosità della popolazione indagata e dell’ancor minor numero di cani che ha manifestato l’alterazione, gli autori suggeriscono comunque di interpretare tali risultati con cautela e che altre ricerche andrebbero compiute in quest’ottica (Israeli I et al., 2012).

Eccesso di basi – Nel 2013 Beer KA et al. hanno investigato anche l’eccesso di basi dell’emogasanalisi come marker prognostico, riscontrando un certo grado di correlazione con la presenza di necrosi gastrica e con il tasso di mortalità in corso di GDV. Tra i 73 cani della popolazione presa in esame, sottoposti ad intervento chirurgico per GDV, il valore mediano di eccesso di basi si è dimostrato significativamente inferiore negli 8 cani deceduti (-6.1; range -14.9 a -2.9) rispetto ai 65 sopravvissuti alla dimissione (-3.4; range -12.2 a 7).

Allo stesso modo, il valore iniziale mediano era significativamente più basso nei 16 soggetti con necrosi gastrica (-5,7; range -12,2 a 0,6) in confronto a quelli che non la presentavano (-3,4; range -14,9 a 7). Nello stesso studio viene però evidenziato che tali associazioni non risultano così forti, probabilmente per l'influenza che diversi fattori hanno su tale valore (come ad esempio le concentrazioni sieriche di sodio, cloro, fosfati, altri ioni e proteine): questo parametro non è considerabile quindi come un fattore prognostico affidabile dagli stessi autori (Beer KA et al., 2013).

Parametri della coagulazione e markers infiammatori - I parametri della coagulazione e i markers infiammatori (come la proteina C reattiva - CRP) sono stati presi in considerazione, ma non hanno evidenziato un valore prognostico significativo a causa della loro variabilità e soprattutto aspecificità (Israeli I et al., 2012; Verschoof J et al., 2015). Nel lavoro di Verschoof J et al. del 2015, infatti, i prelievi effettuati successivamente alla chirurgia nei 5 cani deceduti dopo l'intervento per sepsi o per CID, hanno evidenziato un aumento dei tempi di coagulabilità e della concentrazione di D-dimeri e una riduzione significativa della concentrazione di fibrinogeno rispetto ai cani sopravvissuti. Tuttavia, le analisi statistiche eseguite per verificare queste stesse considerazioni in sede preoperatoria non avevano dato riscontro di detenere un valore prognostico.

La CRP, invece, ha registrato un aumento nel 75% dei cani con GDV monitorati in uno studio del 2012, risultando molto valida nell'identificare rapidamente la presenza di un danno o infiammazione tissutale: tuttavia, il suo potenziale di identificazione di lesioni della parete gastrica o di prevedere una mortalità è risultata scarsa. Non c'era, infatti, una differenza significativa tra soggetti deceduti e sopravvissuti, tra i cani che avevano presentato necrosi gastrica e quelli che non l'avevano presentata, tra quelli con e senza aritmie cardiache, né tra quelli con alterazioni emostatiche e quelli che non ne avevano (Israeli I et al., 2012). In uno studio successivo, di Uhrilkova I et al. del 2015, questi risultati

sulla CRP sono stati confermati. Nella popolazione di cani considerata, infatti, come nello studio precedentemente esaminato, non è stata evidenziata alcuna differenza statisticamente significativa nella concentrazione di CRP preoperatoria tra i pazienti sopravvissuti e i non sopravvissuti, nonostante i valori mediani dei primi (8,0 mg/L) fossero minori dei secondi (12,8 mg/L).

Canine pancreatic lipase immunoreactivity (cPLI) - La capacità predittiva di outcome della cPLI è stata valutata nello studio di Israeli I et al. del 2012, poiché gli autori hanno riscontrato che i danni a carico del pancreas a seguito di GDV sono più frequenti di quanto atteso. La cPLI è pancreas esocrino-specifica e detiene una sensibilità del 71-81% per la diagnosi di pancreatite (Kathrani A et al., 2009; Trivedi S et al., 2011). Nello studio sopracitato, il 58% dei cani inclusi hanno registrato un aumento della cPLI, ma una chiara correlazione tra questo dato e la prognosi non è stata identificata (Israeli I et al., 2012). L'utilizzo della cPLI come fattore prognostico in cani con GDV è stato oggetto di studio nel mio corso di dottorato e verrà quindi approfondito e sviluppato in seguito nella tesi.

Procalcitonina (PCT) – La procalcitonina è il precursore della calcitonina e viene utilizzato in medicina umana come fattore diagnostico e prognostico per alcune patologie gravi quali sepsi e SIRS (Reinhart K e Meisner M, 2011; Schuetz et al., 2017). Anche nel cane questo biomarker è stato dimostrato essere utile per la valutazione della prognosi in corso di sepsi in uno studio (Troia R et al., 2018b), tuttavia il suo valore clinico in corso di stati infiammatori sistemici non è ancora stato valutato in modo estensivo (Troia R et al., 2018a). In uno studio del 2018 la concentrazione plasmatica di questo fattore al momento della ammissione è stato valutato come marker prognostico in corso di GDV e ha dato riscontro positivo in questo senso: la differenza tra i valori registrati dai cani sopravvissuti e da quelli morti era statisticamente significativa. Gli autori dello studio ammettono che ci potrebbero essere

delle limitazioni alla potenza delle analisi che hanno portato a questa affermazione, poiché i casi inclusi erano 29, tuttavia i risultati ottenuti sono incoraggianti.

Nello stesso studio è stata valutata anche la capacità prognostica in corso di GDV del *Cell-free DNA* (cfDNA) e della proteina *high-mobility group box-1* (HMGB1), che tuttavia non hanno prodotto i risultati sperati in termini di efficacia predittiva di outcome (Troia R et al., 2018a).

CAPITOLO 5. PARTE SPERIMENTALE

Il progetto di ricerca su cui vertevano gli studi di questo dottorato è stato articolato in due parti. La prima parte ha indagato l'affidabilità dei lattati come fattori prognostici per l'outcome dei cani sottoposti ad intervento chirurgico per GDV; la seconda parte ha invece investigato la possibilità di utilizzare nuovi fattori predittivi di necrosi gastrica e di prognosi per gli stessi pazienti, valutando in particolare lipasi pancreatica e lipasi pancreatica specifica canina cPLI.

5.1 INDAGINE SULL'AFFIDABILITA' DEI LATTATI PLASMATICI COME FATTORI PROGNOSTICI IN CORSO DI GDV

(Modificato da: Grassato L, Spinella G, Musella V, Giunti M, Vilar JM, Valentini S. *“Pre- and post-surgical evaluation of plasma lactate concentration in 45 dogs with gastric dilatation-volvulus: a preliminary study”*; Heliyon 6 (2020) e03307.

E da: Grassato L, Spinella G, Musella V, Giunti M, Valentini S. *“Plasma lactate concentration: is it a reliable prognostic factor in dogs with gastric dilatation- volvulus?”*; Scientific Presentation Abstracts: 2018 European College Veterinary Surgeons Annual Scientific Meeting, July 4-6, 2018 - Athens, Greece; Vet Surg 2018;47:E52)

5.1.1 Introduzione

Questo studio preliminare è stato disegnato ad hoc per contribuire alla valutazione dell'affidabilità della concentrazione dei lattati plasmatici (PLC) e della loro clearance come

fattori predittivi di presenza di necrosi gastrica e come fattori prognostici di sopravvivenza in cani affetti da GDV.

Gli scopi principali del lavoro erano: 1) valutare l'affidabilità come fattore prognostico di PLC al momento della presentazione del paziente con GDV in clinica (T0), 2) comparare i risultati ottenuti con quelli descritti nella letteratura veterinaria, e 3) determinare l'eventuale validità come fattore prognostico di PLC a 24 (T24) e 48 (T48) ore dall'intervento chirurgico.

La derivazione e la formazione dei lattati, e la descrizione dell'iperlattatemia sono stati ampiamente descritti nel capitolo 4 di questa tesi, a cui quindi si rimanda.

Nel corso dell'ultimo ventennio sono stati condotti molti studi per determinare se la PLC e la sua clearance potessero essere efficaci fattori predittivi di presenza di necrosi gastrica e sopravvivenza nei cani affetti da GDV. In origine, lo studio di De Papp E et al. (1999) ha indicato un valore di PLC pari a 6.0 mmol/L come affidabile fattore prognostico di necrosi gastrica e morte; tale cut-off è stato successivamente modificato a 9.0 mmol/L da Zacher LA et al. (2010) e ulteriormente rettificato a 7.4 mmol/L da Santoro Beer KA et al. (2013). Lo studio condotto da Green TI et al. (2011) ha invece indicato due valori di cut-off inferiori, uno utile a predire la presenza di necrosi e l'altro per la sopravvivenza, pari rispettivamente a 2.9 mmol/L e 4.1 mmol/L. Nel 2014 è stata pubblicata da Mooney E et al. una review che ha riassunto i dati riportati dagli studi precedentemente citati e ha proposto un compromesso tra i dati riportati: in conclusione si stabiliva che un valore di PLC iniziale maggiore di 6 mmol/L dovrebbe essere considerato come buon indicatore di possibile necrosi gastrica, di probabile sviluppo di complicanze e di aumento delle spese di ospedalizzazione, mentre una PLC <4 mmol/L indicherebbe maggiori chances di sopravvivenza. In ogni caso, gli autori dello studio suggerivano fortemente di eseguire una laparotomia esplorativa per verificare la presenza o meno di necrosi gastrica, poiché non esiste un consenso metodologico uniforme tra i diversi studi che trattano l'argomento (Mooney E et al., 2014).

Come già affermato, non è stata indagata solo la PLC, ma anche la sua clearance e le relative variazioni. Nello studio di Zacher LA et al. del 2010 è stato osservato che le modificazioni di PLC dopo un iniziale intervento di rianimazione con fluidoterapia possono essere un valido aiuto nel determinare la prognosi per il paziente; in particolare, è stato notato che una diminuzione di PLC inferiore al 42,5%, o a 4 mmol/L in termini di valore assoluto, erano associati ad un tasso di sopravvivenza significativamente inferiore a quello di cani che avevano registrato una diminuzione di PLC più alta (Zacher LA et al., 2010). Uno studio successivo (Green TI et al., 2011) ha messo in evidenza risultati in linea con questo studio, concludendo che una diminuzione superiore al 50% del valore iniziale di PLC evidenziato nelle prime 12 ore post chirurgia era un buon indicatore di sopravvivenza.

Una variazione rispetto a quanto concluso negli anni precedenti è dovuta ad Israeli I et al., che nel 2012 propongono un'idea leggermente differente da quelle espresse dagli altri studi, affermando che la PLC fosse maggiormente dipendente dalla gravità di ipoperfusione sistemica, acidosi e shock, piuttosto che direttamente associata alla presenza di necrosi gastrica. Nel loro studio su 66 cani con GDV e 79 cani sani usati come gruppo controllo, infatti, hanno notato che 38 pazienti (58.5%) presentavano iperlattatemia e che la PLC non era significativamente più elevata nei cani non sopravvissuti (mediana: 67 mg/dL; range: 10-227.5 mg/dL) rispetto ai sopravvissuti (mediana: 43.3 mg/dL; range: 0.9-179.3 mg(dL). Nello studio, infatti, non è stata notata una differenza nella proporzione di sopravvissuti tra cani con iperlattatemia (29/38, 76.3%) e cani normolattatemicici (22/27, 81.5%). Infine, l'iperlattatemia non era risultata essere in correlazione con l'esecuzione di gastrectomia o invaginamento della parete gstrica (Israeli I et al., 2012).

Anche negli studi compiuti e pubblicati negli ultimi anni i risultati sembrano discordanti.

Nel lavoro di Oron et al. (2018), che comparava i livelli di PLC ottenuti mediante prelievi ematici dalla vena safena e dalla vena cefalica in cani affetti da GDV, è emerso che le

concentrazioni di PLC erano significativamente superiori nei soggetti andati incontro a morte piuttosto che nei sopravvissuti (Oron LD et al., 2018).

Un po' diverse sono invece le considerazioni evinte dallo studio di Troia et al. (2018) su 29 cani con GDV, nel quale i lattati ematici si sono rivelati utili fattori predittivi di presenza di necrosi gastrica, ma non di morte o sopravvivenza dei pazienti (Troia R et al., 2018a).

Appare chiaro anche in questo caso che ancora non esiste uniformità di pareri che consentano di stabilire una linea guida univoca sull'utilizzo dei lattati come fattori prognostici in corso di GDV: questo giustifica l'interesse sempre maggiore per la ricerca di nuovi markers più affidabili e la volontà di cercare di apportare nuovi dati in proposito con lo studio condotto durante il mio corso di dottorato.

5.1.2 Materiali e metodi

Sono state esaminate le cartelle cliniche dei cani affetti da GDV presentati al servizio clinico dei piccoli animali dell'Ospedale Veterinario Universitario (OVU) "G. Gentile" nel periodo compreso tra il 1 aprile 2012 e il 1 luglio 2017. Sono stati inclusi nello studio solo i casi che avevano mostrato evidenza diagnostica di GDV tramite esame radiografico e/o chirurgia; sono stati esclusi i cani che avevano già ricevuto precedenti trattamenti prima di arrivare in clinica e quelli per i quali non erano disponibili i dati sulla PLC alla presentazione in OVU (T0).

Le cartelle cliniche sono state analizzate per registrare i dati su procedure e trattamenti prechirurgici ricevuti in OVU, descrizione dell'intervento (presenza o assenza di necrosi gastrica), complicanze, condizioni cliniche dei pazienti durante il ricovero, valori di PLC osservati e outcome (eutanasia, morte o sopravvivenza).

Sono stati registrati i valori di PLC al momento dell'arrivo in OVU (T0), a 24 (T24) e 48 (T48) ore dall'intervento chirurgico: tutti gli animali sono stati classificati a seconda della presenza o assenza di necrosi gastrica osservata macroscopicamente al momento dell'intervento chirurgico e a seconda dell'outcome riportato.

I dati sono stati sottoposti ad indagini statistiche per valutare se fosse reperibile un valore di cut-off della PLC a T0 che potesse offrire una indicazione prognostica per la presenza di necrosi e per la sopravvivenza del paziente e per osservare la potenziale efficacia della PLC a T24 e T48 come fattori prognostici.

I trattamenti preoperatori erano simili per tutti i cani: rianimazione fluidica intravenosa, terapia antibiotica di copertura e cure di supporto. Tutti i cani sono stati sottoposti a decompressione gastrica effettuata per via orale tramite sonda orogastrica e/o per via percutanea utilizzando un ago 18-gauge; per tutti i cani queste procedure sono state seguite da laparotomia esplorativa per verificare lo stato della parete gastrica, riposizionare lo stomaco ed eseguire una gastropessi.

Tutti i cani che presentavano una necrosi gastrica molto estesa sono stati sottoposti ad eutanasia intraoperatoria dopo aver ottenuto il consenso dei proprietari, mentre i cani che presentavano aree di necrosi parietale di piccole dimensioni e chirurgicamente approcciabili sono stati trattati con gastrectomia della parte interessata.

Il protocollo anestesilogico era simile per tutti gli animali e consisteva in premedicazione eseguita con metadone (0.2-0.3 mg/kg IM; Synthadon, Le Vet Pharma, Paesi Bassi), induzione con propofol (1-2 mg/kg IV; Propofol, Merial, Francia), intubazione endotracheale e mantenimento con miscela di ossigeno puro e isoflurano (Vetflurano, Virbac, Merial, Francia).

Dopo la chirurgia, tutti i cani sono rimasti ricoverati e monitorati presso l'unità di terapia intensiva per periodi variabili tra 3 e 5 giorni. È stato quindi suggerito ai proprietari di

mantenere un regime alimentare specifico e una ristretta attività fisica per un periodo di 7-10 giorni dopo le dimissioni e di continuare per lo stesso periodo la somministrazione della terapia antibiotica impostata.

I dati raccolti sono stati espressi utilizzando la statistica descrittiva: sono stati presentati quindi come media \pm deviazione standard (SD), o come mediana e range, sulla base della loro distribuzione.

Tutti i dati sono stati sottoposti ad indagine statistica mediante il test esatto di Fischer con livello di significatività $p \leq 0.05$.

Un modello di probabilità per la predizione di necrosi e di sopravvivenza è stato prodotto utilizzando un modello di regressione logistica, individuando il valore di cut-off (sensibilità e specificità) mediante la curva ROC (Receptor Operating Characteristics). Valori di $p < 0.05$ sono stati considerati come significativi.

Il rischio di presenza di necrosi è stato valutato usando un modello di regressione di Cox per analisi di sopravvivenza. Di nuovo, valori di $p < 0.05$ sono stati considerati come significativi.

Tutte le indagini statistiche sono state condotte utilizzando Stata v.14 software (StataCorp LP, College Station, Texas, USA).

5.1.3 Risultati

Sono stati inclusi nello studio 45 cani: 30 maschi (6 castrati) e 15 femmine (5 sterilizzate).

Il Pastore tedesco è stata la razza maggiormente rappresentata (15 soggetti): altre razze presenti erano meticci di taglia grande (9), Dobermann Pinscher (6), Alano (5), Basset Hound (1), Pastore belga (1), cane Corso (1), Setter irlandese (1), Bracco tedesco (1),

Leonberger (1), Pastore maremmano (1), Mastino napoletano (1), San Bernardo (1) e Husky (1).

Il peso corporeo medio era di 39 kg (range 23-65 kg) e l'età media registrata di 8.4 anni (range 1-14 anni).

Trentuno dei 45 cani inclusi (69%) sono sopravvissuti alla dimissione, mentre 14 (31%) sono deceduti.

I valori della PLC a T24 erano disponibili per 32 pazienti (29 sopravvissuti e 3 non sopravvissuti) e a T48 per 19 soggetti (17 sopravvissuti e 2 non sopravvissuti).

Tredici cani su 45 (29%) hanno presentato evidenza di necrosi macroscopica della parete gastrica: 10 casi tra di essi (77%) non sono sopravvissuti alla dimissione.

Non è stata identificata alcuna differenza statisticamente significativa a T0 tra i cani che presentavano necrosi e quelli che non la presentavano, come anche tra i cani sopravvissuti e i deceduti. Lo stesso risultato statistico è stato apprezzato a T24 e T48. Nonostante ciò, i soggetti morti hanno registrato dei valori medi superiori all'intervallo superiore di normalità (1.5 mmol/L), sia a T24 che a T48. La stessa considerazione statistica era valida per i cani con necrosi gastrica al momento T48.

I valori medi \pm SD a T0, T24 e T48 sono indicati nella Tabella 1 (Tab. 1).

		T0 (mmol/L)	T24 (mmol/L)	T48 (mmol/L)
Necrosi gastrica	Sì	5.0 \pm 3.2 _a	1.1 \pm 0.2	3.0 \pm 1.6
	No	4.1 \pm 3.8 _{a, b}	1.7 \pm 1.6	1.0 \pm 0.5
Sopravvivenza	Sì	4.2 \pm 3.2 _{a, b}	1.4 \pm 0.7	1.1 \pm 0.5
	No	4.9 \pm 3.8	3.6 \pm 4.7	2.4 \pm 2.5

Tab. 1 – Valori medi \pm SD osservati nello studio a T0, T24 e T48 nei cani con e senza necrosi gastrica, e nei sopravvissuti e non. _a = significativamente differente da T24; _b = significativamente differente da T48.

Nella popolazione di cani con GDV da noi considerata, il modello di regressione logistica utilizzato per predire la presenza di necrosi gastrica e la sopravvivenza ha indicato che a T0 una PLC >2.55 mmol/L era il valore che presentava il miglior compromesso tra sensibilità (85%) e specificità (44%) per l'indicazione di presenza di necrosi, e una PLC <4.45 mmol/L era un buon parametro predittivo di sopravvivenza (sensibilità 33% e specificità 77%).

Tredici su 45 cani (29%) hanno registrato una PLC a T0 ≤ 2.55 mmol/L, mentre per 30 su 45 (67%) era <4.45 mmol/L. Undici tra i 31 cani sopravvissuti (35%) avevano una PLC iniziale ≥ 4.45 mmol/L, mentre questo dato è stato registrato solo da 4 tra i 14 cani non sopravvissuti (28%). Per di più, 11 soggetti su 13 (85%) che dimostravano presenza di necrosi gastrica hanno presentato una PLC a T0 >2.55 mmol/L.

Questi valori sembrano dimostrare un lieve aumento del rischio di necrosi gastrica e morte nella popolazione considerata, tuttavia il dato non è statisticamente significativo ($p > 0.05$).

Questi risultati non si discostano molto da quelli dello studio di Green et al. (2011), che hanno proposto dei valori di PLC di 2.9 mmol/L e di 4.1 mmol/L come i migliori cut-off per predire rispettivamente la sopravvivenza e l'assenza di necrosi nella loro popolazione di cani.

Considerando i valori proposti dallo studio di Green et al. (2011) e applicandoli alla popolazione canina inclusa nel nostro studio è risultato che 19 cani su 45 (42%) avevano una PLC a T0 ≤ 2.9 mmol/L e 28 su 45 (62%) hanno presentato un valore <4.1 mmol/L. Tra i 31 soggetti sopravvissuti alla dimissione, 11 (35%) hanno registrato una PLC iniziale ≥ 4.1 mmol/L; tra i 14 non sopravvissuti, solamente 6 (43%) avevano una PLC a T0 ≥ 4.1 mmol/L. In più, 8 cani tra i 13 (62%) che presentavano necrosi avevano una PLC iniziale >2.9 mmol/L.

Le analisi statistiche che hanno studiato l'applicazione dei cut-off di Green et al. (2011) alla nostra popolazione di animali, hanno mostrato che non c'era un rischio significativamente maggiore di presenza di necrosi o di morte quando la PLC a T0 era >2.9 mmol/l o ≥ 4.1 mmol/L rispettivamente.

I valori di media \pm SD registrati a 24 e 48 ore dopo la chirurgia erano significativamente differenti rispetto ai valori di PLC a T0 per i cani che non presentavano necrosi della parete gastrica e per i sopravvissuti; una differenza statisticamente significativa, invece, si è demarcata solo tra PLC a T0 e T24 per i cani con necrosi. I soggetti non sopravvissuti non hanno dimostrato alcuna differenza tra PLC a T0, T24 e T48. Lo stesso è successo tra le PLC a T24 e T48 di tutte le categorie considerate (Tab.1).

Per quanto riguarda i valori mediani invece, per tutti i gruppi è stata registrata una diminuzione superiore al 50% del valore da T0 a T24; lo stesso è successo da T24 a T48 nei pazienti senza necrosi gastrica e negli animali sopravvissuti (Tab. 2).

		T0 (mmol/L)	T24 (mmol/L)	T48 (mmol/L)
Necrosi gastrica	Sì	3.2 (0.9–12.7)	1.15 (0.8–1.4)	NA (1.9–4.2)
	No	3.2 (0.9–16.4)	1.2 (0.6–9.1)	0.9 (0.6–2.5)
Sopravvivenza	Sì	3.2 (0.9–16.4)	1.2 (0.6–4.2)	0.9 (0.6–2.5)
	No	3.25 (2.1–12.7)	1.1 (0.7–9.1)	NA (0.6–4.2)

Tab. 2 - Valori mediani (e range) osservati nello studio a T0, T24 e T48 nei cani con e senza necrosi gastrica, e nei sopravvissuti e non. NA = Non Applicabile, in quanto solo 2 cani erano inclusi in questi gruppi. I valori mediani dei due soggetti sono riportati tra parentesi e presentati come valori assoluti.

5.1.4 Discussioni

Come accennato in precedenza, il ruolo della PLC come fattore predittivo e prognostico nei cani affetti da GDV è molto dibattuto nel panorama letterario veterinario, con indicazioni e risultati controversi (De Papp E et al., 1999; Zacher LA et al., 2010; Green TI et al., 2011; Israeli I et al., 2012; Mooney E et al., 2014; Troia R et al., 2018; Oron DL et al., 2018).

Lo scopo di questo nostro lavoro retrospettivo era di 1) valutare l'affidabilità della PLC alla presentazione come fattore prognostico in corso di GDV, 2) comparare i dati ottenuti e le considerazioni da essi evinte con la letteratura veterinaria esistente, e 3) introdurre la validità dei valori di PLC a 24 e 48 ore dalla chirurgia come fattori prognostici.

I nostri dati hanno registrato una diminuzione superiore al 50% dei valori mediani di PLC da T0 a T24 sia nel gruppo di cani che non presentavano necrosi gastrica, sia in quelli che sono sopravvissuti; tuttavia, gli stessi dati sono stati registrati anche per i soggetti con necrosi e per quelli non sopravvissuti. Poichè una diminuzione superiore al 50% di questi valori mediani è stata dimostrata per tutte le categorie considerate, questo parametro non è risultato essere un indicatore affidabile di presenza di necrosi o di prognosi nella nostra popolazione di cani con GDV. Delle considerazioni differenti erano state fatte da Zacher LA et al. nel loro studio del 2010 e da Green TI et al. nel 2011: i primi avevano infatti notato che una clearance della PLC $\leq 42.5\%$ dopo la rianimazione fluidica era associata con una sopravvivenza significativamente più bassa, mentre i secondi avevano dimostrato che un calo superiore o uguale al 50% della PLC a T0 dopo 12 ore dalla prima misurazione era un buon indicatore di sopravvivenza. La natura retrospettiva del nostro studio non ci ha permesso di valutare la clearance di PLC negli stessi intervalli di tempo dei due studi sopra citati, ovvero dopo la rianimazione fluidica o dopo 12 ore, ma solo a 24 ore dall'intervento chirurgico.

Le analisi statistiche non hanno evidenziato, nella nostra popolazione canina, un aumento del rischio di presenza di necrosi gastrica e morte considerando come rispettivi valori di cut-

off di PLC a T0 di 2.9 mmol/L e di 4.1 mmol/L, contrariamente a quanto dimostrato da Green et al. (2011). Gli stessi risultati sono stati inoltre registrati considerando un valore soglia di PLC a T0 di 2.55 mmol/L e di 4.45 mmol/L rispettivamente, identificati come i migliori compromessi tra sensibilità e specificità nei cani inclusi nel nostro lavoro.

In riferimento ai valori di media, questo studio non ha mostrato una differenza statisticamente significativa tra la PLC iniziale nei cani con o senza necrosi gastrica, come anche tra i soggetti sopravvissuti e non, in contrapposizione allo studio di Oron DL et al., (2018), dove i valori medi di PLC erano significativamente superiori nei cani non sopravvissuti rispetto ai sopravvissuti.

Gli stessi risultati si sono ripetuti a T24 e T48. Tuttavia, i cani non sopravvissuti hanno registrato un valore medio di PLC superiore a 2 mmol/L sia a T24 e T48. La stessa considerazione era valida per i soggetti con necrosi gastrica a T48. Nonostante queste differenze non fossero statisticamente significative, bisogna considerare che il numero di cani non sopravvissuti a T48 era esiguo e studi statistici su popolazioni più ampie dovrebbero venire condotte per avvalorare i risultati di questo nostro studio pilota a questo proposito.

Delle differenze non significative sono state notate tra PLC a T24 e T48 per tutte le categorie considerate: è possibile che un intervallo di tempo superiore a 24 ore sia necessario per evidenziare delle variazioni rimarchevoli della PLC dopo T24, ma è anche probabile che, in realtà, a T24 vengano già raggiunte delle concentrazioni di PLC molto vicine a quelle normali del soggetto, e quindi valutazioni successive siano inutili, in quanto non dimostrerebbero ulteriori variazioni.

Nel 29% degli animali inclusi nel nostro studio è stata evidenziata la presenza di necrosi gastrica macroscopicamente visibile, e il 33% di questi sono sopravvissuti alle dimissioni; l'87.5% dei cani che non presentavano necrosi sono sopravvissuti. Questi dati suggeriscono che la necrosi gastrica influisce in modo importante sull'outcome, come già indicato

precedentemente in letteratura (De Papp et al., 1999; Zacher et al., 2010; Green et al., 2011; Santoro Beer et al., 2013). Il tasso di mortalità riportato nel nostro studio è del 31% e si trova in linea con il range indicato in letteratura negli studi più recenti (Beck JJ et al., 2006; Buber T et al., 2007; Mackenzie G et al., 2010; Zacher LA et al., 2010).

La limitazione principale di questo studio è rappresentata dal numero ristretto di casi inclusi, in particolar modo per i gruppi relativi ai soggetti con necrosi gastrica e ai non sopravvissuti analizzati a T48, poiché la maggior parte dei cani appartenenti a queste due categorie erano morti prima di T48. In questi due gruppi, infatti, sono stati inclusi solamente 2 soggetti, che hanno anche riportato valori di PLC a T48 in trend contrastanti. In più, a causa della natura retrospettiva del lavoro, non sempre era disponibile una conferma istologica di necrosi della parete gastrica. Studi prospettici e includenti popolazioni più ampie di cani dovrebbero essere compiuti per completare e verificare queste discussioni.

5.1.5 Conclusioni

I nostri risultati non hanno dimostrato nella popolazione di cani con GDV inclusi nello studio né una affidabilità prognostica della PLC alla presentazione, né di un calo superiore al 50% di questo parametro a T24. Nonostante queste conclusioni siano valide solo per questa piccola popolazione di soggetti, pensiamo che possano essere un punto di partenza per successivi e più ampi studi sulla PLC, e che probabilmente anche altri fattori predittivi e prognostici dovrebbero essere investigati in corso di GDV.

5.2 INDAGINE SULL’AFFIDABILITA’ DELLA LIPASI PANCREATICA SPECIFICA E SULLA LIPASI COME FATTORI PROGNOSTICI IN CORSO DI GDV

(Modificato da: *Spinella G, Dondi F, Grassato L, Magna L, Cola V, Giunti M, Del Magno S, Valentini S, 2018. Prognostic value of canine pancreatic lipase immunoreactivity and lipase activity in dogs with gastric dilatation-volvulus. PLoS One 13(9). doi: 10.1371/journal.pone.0204216*)

5.2.1 Introduzione

Questo studio prospettico è stato disegnato come uno studio pilota per la valutazione dell’efficacia prognostica per la sopravvivenza della lipasi pancreatica specifica e della lipasi in cani colpiti da GDV.

La lipasi è un enzima prodotto dal pancreas, dal tessuto adiposo, dalla mucosa gastrica e duodenale, con una specificità bassa/moderata per la diagnosi di pancreatite (Kathrani A et al., 2009). La lipasi pancreatica specifica canina (cPLI), invece, è sintetizzata e rilasciata soltanto dalle cellule acinose del pancreas (Trivedi S et al., 2011), ed è quindi molto più pancreas-specifica, con un’alta sensibilità per la diagnosi di pancreatite (>80% in Steiner JM et al., 2008; 72-78% in McCord K et al., 2012). Inoltre, in uno studio è stata notata una correlazione tra un aumento di cPLI e morte in cani con malattia intestinale infiammatoria (Kathrani A et al., 2009).

Scopo dello studio prospettico eseguito durante il mio corso di dottorato era comprendere meglio l’evenienza di un coinvolgimento pancreatico in corso di GDV e quale fosse la eventuale correlazione con l’outcome. L’ipotesi principale era che concentrazioni elevate di

cPLI fossero associate ad un cattivo outcome e che potessero quindi rappresentare degli efficaci fattori prognostici.

Una seconda ipotesi era che altri parametri, quali lipasi, concentrazione plasmatica di lattati (PLC) e proteina C-reattiva (CRP), potessero essere di valido aiuto per effettuare delle valutazioni sulla prognosi dei pazienti: anche questi dati sono stati studiati.

Infine, è stato condotto un confronto tra cani con GDV e altri pazienti affetti da occlusione intestinale, per poter valutare le variazioni delle lipasi e di cPLI in corso di problematiche differenti a carico del tratto gastroenterico e determinare se tali variazioni potevano essere specificatamente attribuite solo a GDV, o se fossero reperti comuni in diverse patologie addominali chirurgiche.

5.2.2 Materiali e metodi

Per l'esecuzione di questo progetto è stata ottenuta una approvazione dal comitato etico presso l'Università di Bologna, in accordo con il DL 26/2014 (ID progetto 581).

Sono stati raccolti i dati sul tempo preoperatorio in relazione a segnalamento, anamnesi, segni clinici al momento della presentazione e tutti i trattamenti ricevuti dal paziente presso il servizio clinico dei piccoli animali dell'Ospedale Veterinario Universitario (OVU) "G. Gentile" prima della chirurgia.

Le cartelle chirurgiche sono state esaminate per determinare il tipo di chirurgia a cui l'animale era stato sottoposto, le condizioni degli organi addominali al momento della celiotomia esplorativa e le eventuali complicazioni intervenute, quando presenti.

I dati raccolti in riferimento al periodo postoperatorio, invece, riguardavano le condizioni dei pazienti durante l'ospedalizzazione, i trattamenti ricevuti e l'outcome.

I soggetti che avevano ricevuto qualsiasi trattamento prima dell'arrivo in clinica sono stati esclusi dallo studio, come anche quelli affetti da patologie pancreatiche preesistenti e quelli sottoposti ad eutanasia per ragioni non etiche.

I cani affetti da GDV sono stati suddivisi in gruppi a seconda dell'outcome riportato: i cani che avevano superato le dimissioni sono stati classificati come "sopravvissuti", mentre quelli sottoposti ad eutanasia o che sono andati incontro a morte spontanea come "non sopravvissuti". L'eutanasia è stata effettuata in alcuni casi che presentavano aree estese di necrosi gastrica, dopo aver ricevuto il consenso informato dai proprietari.

È stato infine selezionato un gruppo controllo di cani che presentavano occlusione intestinale non neoplastica (IO; n=16). A questi animali è stato diagnosticato il problema presso OVU nel medesimo periodo di studio.

Valutazioni clinicopatologiche

In tutti i cani con GDV sono stati eseguiti test laboratoristici completi al momento dell'ammissione in clinica. Il profilo ematobiochimico (AU 480; Olympus/Beckman-Coulter) è stato valutato per tutti i pazienti. Il valore di PLC è stato immediatamente valutato usando un analizzatore di lattati portatile (Lactate Scout +, EKF diagnostics, Cardiff, UK).

I campioni ematici sono stati raccolti prima dell'inizio della rianimazione fluidica (T0) e 24 ore dopo la chirurgia (T1) nei soggetti sopravvissuti fino a quel momento. Entro 30 minuti dal prelievo i campioni sono stati centrifugati a 4°C, 3000 x g; quindi sono stati immediatamente analizzati o stoccati a -80°C fino al momento dell'esecuzione dell'esame. La lipasi (Lipase, OSR 6130, Olympus/Beckman-Coulter) è stata misurata utilizzando il metodo 1,2-digliceride (1,2DiG) (range di normalità nel cane sano: 70-700 U/L); la cPLI (cPLI, IDEXX Laboratories) è stata valutata considerando valori <200 µg/L come normali, >400 µg/L come indicativi di pancreatite, e valori compresi tra 200 e 400 µg/L come sospetti di pancreatite (Trivedi S et al., 2011).

I cani del gruppo IO sono stati sottoposti allo stesso protocollo di valutazione.

I cani del gruppo GDV hanno subito decompressione gastrica mediante sonda orogastrica e/o tramite trocarizzazione con ago 18-gauge.

Il protocollo anestesilogico ha previsto una premedicazione con metadone (0.2-0.3 mg/kg IM; Synthadon, Le Vet Pharma, paesi Bassi), una induzione con propofol (1-2 mg/kg IV; Proposure, Merial, Francia) e un mantenimento con isoflurano (Vetflurano, Virbac, Francia) in miscela con ossigeno puro dopo intubazione orotracheale.

Tutti i cani sono stati ricoverati nel reparto di terapia intensiva dopo l'intervento e monitorati per 3-5 giorni.

Analisi statistiche

I dati sono stati espressi mediante statistica descrittiva. La normalità dei dati è stata appurata graficamente e usando il test D'Agostino Pearson. A causa della distribuzione non normale di diverse variabili, dei test non parametrici sono stati effettuati per tutte le analisi e i risultati riportati come mediane e (range). Il test di Mann Whitney è stato usato per valutare le differenze tra i gruppi. Il test dei ranghi con segno di Wilcoxon e il test di Friedman sono stati condotti per comparare le differenze tra T0 e T1.

Analisi di regressione logistica (con modelli univariati) sono state effettuate per la valutazione della predizione dell'outcome (approccio per fasi). Le variabili sono state studiate per valutare se collineari prima della loro introduzione nel modello di regressione. I risultati sono stati presentati come rapporti di probabilità (odd ratio, OR) e loro intervalli di confidenza al 95% (CI). Il modello generale è stato valutato sulla base delle percentuali di outcome correttamente classificati dalla curva ROC (receiver operator characteristic) e dal test di Hosmer e Lemeshow ($p > 0.05$). I risultati di tutte le indagini statistiche sono stati considerati come significativi con $p \leq 0.05$. Una analisi di dimensione del campione e di potenza è stata condotta usando il normogramma di Altman per determinare la potenza di

questo studio pilota e il numero di cani che dovessero essere inclusi in studi futuri come campione per raggiungere una potenza minima dell'80%. Questo è stato effettuato sulla base dei valori medi e di deviazione standard della cPLI, calcolati come precedentemente riportato nei sopravvissuti e non sopravvissuti nel gruppo di cani con GDV (Hozo SP et al., 2005).

Le analisi statistiche sono state eseguite usando il software MedCalc Statistical, versione 17.9.7 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgio; <http://www.medcalc.org>; 2017).

5.2.3 Risultati

Segnalamento

Ventidue cani con GDV sono stati inclusi nello studio. L'età mediana era 8 anni (2-17) e il peso mediano era 35 KG (18-55). Diciassette cani erano maschi (3 castrati) e 5 femmine (1 sterilizzata). I soggetti erano per lo più di taglia grande e gigante, in particolare per 18 su 22 (7 Pastori tedeschi o meticci di Pastore tedesco, 4 Dobermann Pinscher, 2 Labrador Retrievers, 2 Bull Mastiff, 1 alano, 1 Rhodesian Ridgeback, 1 Mastino napoletano), ma erano presenti anche 4 cani di taglia media (1 Bracco tedesco, 1 Basset Hound, 1 Dalmata e 1 Bulldog francese).

Sedici cani sono stati inclusi nel gruppo IO, con un peso mediano di 16 kg (6-36) e una età mediana di 8.5 anni (1-14). Sette di questi soggetti erano maschi (1 castrato) e 9 erano femmine (3 sterilizzate). Questo gruppo includeva una grande varietà di razze (3 meticci, 2 Boxer, 2 Setter inglesi, 2 Labrador Retreievers, 1 Bassotto, 1 Bull Terrier, 1 Border Collie, 1 Lagotto romagnolo, 1 beagle, 1 Golden Retriever, 1 Pinscher).

Outcome, risultati chirurgici, complicazioni e ospedalizzazione

Sedici su 22 cani (73%) con GDV sono sopravvissuti alla dimissione, mentre 6/22 (27%) non sono sopravvissuti; 4 di questi sono stati sottoposti ad eutanasia intraoperatoria a causa di estesa necrosi gastrica. Gli altri 2 non sopravvissuti sono morti spontaneamente durante la procedura chirurgica o poche ore dopo.

L'età mediana dei sopravvissuti e dei non sopravvissuti era, rispettivamente, 8 anni (3-14) e 9 anni (2-17). Il peso mediano dei sopravvissuti era 36.5 kg (18-55), mentre quello riportato dai non sopravvissuti era 30.5 kg (24-54). Tra i non sopravvissuti, 2 erano femmine e 4 maschi (1 castrato).

Tutti i cani con GDV hanno subito splenectomia totale e una gastropessi incisionale destra; soltanto uno di loro ha subito anche un intervento di gastrotomia per la presenza di un concomitante corpo estraneo gastrico acuminato che non poteva essere rimosso per via endoscopica.

Tra i cani con IO, 2 su 16 (12.5%) non sono sopravvissuti al momento delle dimissioni. Uno di questi (maschio castrato) è morto spontaneamente durante una procedura di revisione chirurgica effettuata due giorni dopo il primo intervento di enterectomia, a causa di una estesa necrosi intestinale; il secondo caso (femmina intera) invece è morto spontaneamente poche ore dopo l'intervento. La loro età mediana e il loro peso mediano erano rispettivamente 8.5 anni (5-12) e 25 kg (18-32).

L'età mediana dei cani con IO sopravvissuti era 8.5 anni (1-14) e il loro peso mediano 14 kg (5-36.5).

Otto cani su 16 hanno subito una enterotomia e 3 su 16 una enterectomia per la rimozione di corpi estranei intestinali che causavano la occlusione. Due cani su 16 presentavano invaginamento digiunale e un cane ha sofferto di occlusione secondaria a formazione di aderenze; in questi tre casi l'occlusione è stata risolta durante la laparotomia esplorativa, senza bisogno di eseguire alcuna dieresi intestinale. I restanti 2 soggetti non hanno avuto

necessità di sottostare ad una procedura chirurgica in quanto presentavano corpi estranei duodenali che sono stati rimossi endoscopicamente.

Risultati laboratoristici

I risultati clinicopatologici dei cani con GDV e IO sono riportati in tabella 3 e 4 (Tab.3 e Tab.4).

Le concentrazioni mediane di cPLI e di lipasi non si sono dimostrate significativamente differenti tra GDV e IO. Le concentrazioni di cPLI dei sopravvissuti e non sopravvissuti per i due gruppi di patologie sono riportate in figura 7 (Fig.7).

La mediana della PLC del gruppo GDV era significativamente superiore; in questo gruppo, 19 cani avevano registrato un aumento della PLC (range di normalità = 0.5-2.0 mmol/L).

La CRP è risultata significativamente inferiore per GDV.

Nel gruppo GDV, la lipasi, la cPLI e la CRP erano significativamente associate ad un outcome negativo, mentre la PLC non lo era; i risultati delle analisi di regressione logistica sono riportati in tabella 5 (Tab.5).

Sulla base delle analisi della curva ROC, la cPLI ha dimostrato scarsa accuratezza nella predizione di outcome. Al contrario, la CRP, con un valore soglia di 2.02 mg/dL, ha denotato il 100% di sensibilità e l'80% di specificità come fattore prognostico di sopravvivenza (AUC = 0.850).

	GDV (n=22)	IO (n=16)
PLC (mmol/L)	5.55 (1.8-12.1) a	1.65 (0.7-9.6)
cPLI (U/L)	101 (30-1784)	163 (30-1170)
Lipasi (U/L)	260 (37-1106)	247 (38-1009)
CRP (mg/dL)	1.71 (0.01-9.89) a	7.3 (0.18-27.04)

Tab.3 – Statistica descrittiva e comparazione tra i gruppi GDV e IO per le variabili clinicopatologiche.

I dati sono riportati come mediana e (range). ^a = differenza significativa con IO ($p \leq 0.05$).

	GDV		IO	
	Sopravvissuti (n=16)	Non sopravvissuti (n=6)	Sopravvissuti (n=14)	Non sopravvissuti (n=2)
PLC (mmol/L)	5.25 (1.8-10.30)	7.1 (3.1-12.1)	1.7 (0.7-9.6)	1.2 (0.8-1.6)
cPLI (µg /L)	67 (30-1784)	716.5 (30-1661)	163 (30-1170)	201.5 (119-284)
Lipasi (U/L)	237 (37-1080)	582.5 (38-1106)	233 (38-1009)	359 (247-471)
CRP (mg/dL)	1.05 (0.01_9.47)	5.79 (2.03-9.89)	6.42 (0.18-27.04)	7.89 (7.3-8.48)

Tab.4 – Statistica descrittiva dei gruppi sopravvissuti e non sopravvissuti per GDV e IO, per le variabili clinicopatologiche.

I dati sono riportati come mediana e (range).

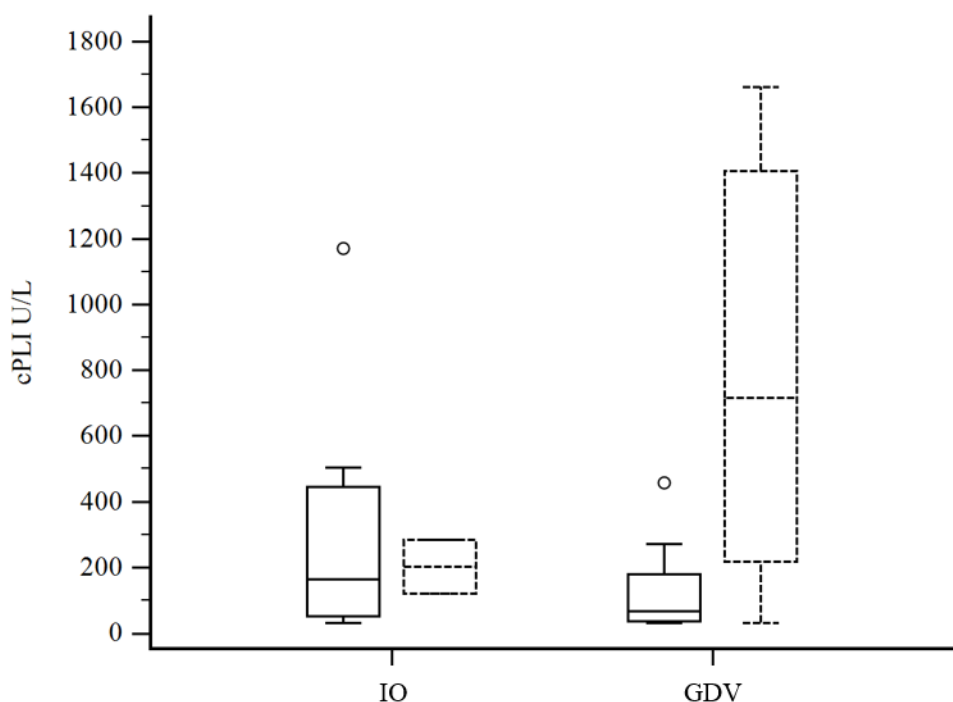


Fig. 7 – Grafico scatole-e-baffi della concentrazione di cPLI (µg/L) a T0 nei cani con GDV (n=16) e con IO (n=22). Le scatole disegnate con linee continue rappresentano i sopravvissuti, mentre quelle disegnate con linee tratteggiate rappresentano i non sopravvissuti. Per ciascuna scatola, la linea orizzontale centrale rappresenta il valore mediano, mentre quelle superiore e inferiore rappresentano il 75° e il 25° percentile, rispettivamente. I baffi rappresentano il valore minimo e massimo; i cerchietti indicano i valori anomali (outlier).

Regressione logistica univariata			
Variabile	OR	95% CI	p value
cPLI (U/L)	1.0017	0.9998-1.0037	.0501
Lipasi (U/L)	1.0035	1.0001-1.0070	.0443
PLC (mmol/L)	1.3417	0.9324-1.9307	.1134
CRP (mg/dL)	1.4204	1.0080-2.0016	.049

Tab.5 –Risultati delle analisi di regressione logistica univariata per la predizione di morte nei cani con GDV.

Sono state riportate solo le variabili dove $p < 0.2$.

5.2.4 Discussioni

L'alto tasso di mortalità in corso di GDV spiega la ricerca di nuovi biomarkers che possano essere di aiuto nella formulazione di una prognosi. I nostri risultati hanno mostrato che la concentrazione di cPLI era maggiore nei soggetti non sopravvissuti per GDV (mediana 716 $\mu\text{g/L}$) che nei sopravvissuti (mediana 67 $\mu\text{g/L}$), nonostante questa differenza non fosse statisticamente significativa ($p = 0.08$).

In precedenza, come descritto nel capito 4 di questa tesi, diversi fattori sono stati presi in considerazione. Ad esempio la CRP era stata indagata in questo senso negli studi di Israeli I et al. (2012) e di Verschoof J et al. (2015), senza aver tuttavia dimostrato una validità significativa come fattore prognostico; nel nostro studio, al contrario, la concentrazione di CRP era significativamente associata con un outcome peggiore. Questa discrepanza indica che ci sarebbe necessità di eseguire studi futuri, magari su popolazioni più ampie, per poter

comprendere la reale importanza del ruolo delle proteine di fase acuta come fattori predittivi specifici di outcome.

La PLC e la sua clearance durante la rianimazione fluidica del paziente, come già ampiamente discusso, sono i fattori più approfonditamente studiati in questo senso e i più utilizzati nella pratica clinica, tuttavia la loro vera attendibilità non è completamente conosciuta e accettata (De Papp E et al., 1999; Zacher LA et al., 2010; Green TI et al., 2011; Israeli I et al., 2012; Mooney E et al., 2014; Troia R et al., 2018; Oron DL et al., 2018). A questo proposito, Israeli et al. (2012) nel loro studio hanno evinto che la PLC è per lo più impattata dalla gravità dell'ipoperfusione sistemica, acidosi e shock, e che è solo indirettamente associata alla presenza di estesa necrosi gastrica (Israeli I et al., 2012). Zacher LA et al. (2010) e Green TI et al. (2011) hanno riportato che non c'era alcuna correlazione significativa tra l'iperlattatemia al momento della presentazione in clinica e la presenza di necrosi o l'outcome (Zacher LA et al., 2010; Green TI et al., 2011); questo risultato è in linea con quello ottenuto dal nostro studio, nel quale la maggior parte dei cani presentavano iperlattatemia, ma questo parametro non era associato alla sopravvivenza. Infine, nei due studi più recenti che prendono in considerazione la capacità prognostica di sopravvivenza dei lattati in corso di GDV, i pareri sono nuovamente contrastanti: in uno studio la PLC risulta significativamente aumentata nei soggetti non sopravvissuti rispetto che nei sopravvissuti, mentre nell'altro non sembra esserci correlazione significativa tra l'iperlattatemia e l'outcome (Oron DL et al., 2018; Troia R et al, 2018a).

La nostra decisione di investigare la lipasi e la cPLI come fattori prognostici deriva dallo studio dei risultati di lavori precedenti che valutavano questi parametri prima e dopo l'intervento chirurgico (Matthiesen DT, 1983; Israeli I et al., 2012). Lo sviluppo di pancreatite è una possibile complicazione in corso di GDV: sembra poter derivare dal malposizionamento gastrico e splenico (Matthiesen DT, 1983; Israeli I et al., 2012), o in

alternativa dalla riduzione del ritorno venoso che potrebbe causare ipoperfusione e conseguente infiammazione del pancreas (Bojrab MJ, 2014).

La lipasi è considerata avere accuratezza e specificità basse/moderate per la diagnosi di pancreatite nel cane (Kathrani A et al., 2009; Dossin O, 2011; Bojrab MJ, 2014). Lo studio di Simpson et al. (1991) ha dimostrato la presenza di lipasi sierica in cani a cui era stato asportato il pancreas (Simpson KW et al., 1991), mentre cani a cui era stata diagnosticata una pancreatite esocrina avevano riportato valori di lipasi compresi nei range di normalità nello studio di Steiner JM et al. (2006). In aggiunta, è stato dimostrato che patologie non pancreatiche, come ad esempio insufficienza renale, patologie intestinali o epatiche, possono provocare delle alterazioni nelle concentrazioni di lipasi (Polzin DJ et al., 1983; Steiner JM, 2003), mentre il 47.6% di 70 cani con pancreatite fulminante fatale avevano registrato valori di lipasi all'interno dei range di normalità (Hess RS et al., 1999).

Al contrario, invece, la cPLI è prodotta soltanto a livello di cellule acinose del pancreas, il che la rende pancreas-specifica (Trivedi S et al., 2011). Nel panorama letterario veterinario, valori di cPLI superiori rispetto al valore soglia di 400 µg/dL sono considerati detenere una specificità molto elevata (97.5-100%) per la diagnosi di pancreatite nel cane (Neilson-Carley SC et al., 2011; Trivedi S et al., 2011).

Israeli et al. (2012) avevano riportato un aumento dei valori di cPLI oltre 200 µg/L nel 58% dei cani con GDV inclusi nel loro studio, con la concentrazione di cPLI del 18% di questi animali che superava i 400 µg/L (Israeli I et al., 2012). Nel nostro studio circa il 36% dei cani ha registrato un aumento di questo parametro, e i soggetti che presentavano una concentrazione superiore ai 400 µg/L erano circa il 27% della popolazione.

Uno studio precedente ha investigato il ruolo della cPLI come fattore prognostico nei cani affetti da malattia infiammatoria intestinale, sottolineando una correlazione tra cPLI e outcome (Kathrani A et al., 2009). I nostri risultati potrebbero indicare la possibilità che il pancreas sia colpito da infiammazione durante le patologie del tratto gastroenterico, con

conseguenti alterazioni nei livelli di cPLI, senza avere quindi una particolare correlazione con la sola GDV (le lipasi e la cPLI non hanno dimostrato differenze significative tra GDV e IO, sia a T0 che a T1).

Un'altra ipotesi che l'attivazione di una pancreatite secondaria indiretta era stata proposta dallo studio di Li C et al. (2013), e investigata attraverso degli studi sperimentali su ratti. Gli autori avevano osservato un livello di "intimità neuronale" degno di nota, tra il pancreas e il duodeno (Li C et al., 2013). In particolare è stato visto che esiste una via vagale comune alla maggior parte degli organi dell'apparato gastroenterico superiore, che suggerisce la possibilità che una lesione acuta ad uno di questi organi possa ripercuotersi sugli altri con una stimolazione indiretta (Li C et al., 2013). Se questo reperto fosse verificato anche nel cane, costituirebbe una semplice spiegazione dell'aumento dei valori della cPLI nei cani con GDV, anche in assenza di alterazioni pancreatiche macroscopiche.

Un risultato interessante di questo studio è che i valori di lipasi e di cPLI erano correlabili con l'outcome nei cani con GDV, confermando l'ipotesi principale. Come già accennato, il coinvolgimento di un organo diverso dal pancreas potrebbe causare un aumento delle lipasi, e un danno esteso a tale organo potrebbe spiegare la sua associazione con un outcome negativo. Tuttavia, la correlazione tra cPLI e l'outcome ha dimostrato valori di significatività borderline ($p=0.05$): cani con concentrazioni più elevate di cPLI avevano probabilità maggiori di registrare un outcome negativo, risultato che incoraggia ulteriori studi su popolazioni canine più ampie a questo riguardo.

I cani con GDV inclusi in questo studio non hanno dimostrato né i segni clinici classici di pancreatite, né segni macroscopicamente evidenti di questa patologia alla visualizzazione diretta del pancreas in sede intraoperatoria, né durante gli esami ecografici addominali successivi all'intervento. Questo dato è in accordo con lo studio di Israeli I et al. (2012), nel quale soltanto un individuo presentava segni clinici di pancreatite nel postoperatorio, registrando il valore di cPLI più elevato tra i pazienti inclusi nello studio ($3380 \mu\text{g/L}$) (Israeli

I et al., 2012). Questi rilievi indicano che il danno pancreatico può aver luogo durante la GDV, ma senza impattare le condizioni cliniche del cane. Tuttavia, è anche possibile che i sintomi di pancreatite fossero mascherati dai trattamenti postoperatori forniti al paziente per la GDV stessa, che richiede un management tendenzialmente sovrapponibile a quello della pancreatite.

Un'altra importante considerazione è che, in uno studio recente, è stato notato un alto grado di correlazione tra cPLI e lipasi calcolata utilizzando il metodo di misurazione 2-o-diluryl-rac-glycero-3-glutaricacid-(6'-methylresorufin) ester (DGGR) (Kook PH et al., 2014). Nel nostro lavoro, invece, è stato utilizzato il metodo 1,2DiG per la misurazione della lipasi: studi di valutazione della lipasi in corso di GDV mediante il metodo DGGR non sono mai stati effettuati, ma potrebbero proporre ulteriori risultati interessanti.

Questo studio ha diverse limitazioni. Prima tra tutte, un basso numero di cani con GDV e IO inclusi nella popolazione di studio, fattore che ha limitato la forza delle indagini statistiche eseguite, come indicato dall'analisi di potenza statistica effettuata. In più, non sono state effettuate biopsie pancreatiche, l'esame gold standard per la diagnosi di pancreatite, e quindi non erano disponibili dati istologici.

5.2.5 Conclusioni

In conclusione, in questa popolazione di cani con GDV, la CRP è stata in grado di predire l'outcome, mentre la PLC non lo è stata. La concentrazione prechirurgica di cPLI e di lipasi era spesso aumentata in corso di patologie addominali chirurgiche, e in particolar modo durante la GDV. Sulla base delle analisi condotte nel nostro studio pilota, la cPLI ha la potenzialità per essere utilizzata come fattore prognostico efficace in corso di GDV.

Per confermare questi dati in uno studio prospettico futuro, considerando il medesimo rischio di mortalità, sarebbe raccomandabile raccogliere un campione di almeno 78 cani.

5.3 CONCLUSIONI

Per concludere, la GDV è una delle emergenze medico-chirurgiche più frequenti nella specie canina. La mortalità riportata è variabile e piuttosto elevata, tanto da giustificare il crescente interesse nella ricerca di markers prognostici che ha caratterizzato le ultime decadi della letteratura veterinaria, durante le quali sono stati proposti diversi studi a riguardo, con indicazioni, tuttavia, non sempre concordi.

Nel corso del mio dottorato di ricerca abbiamo cercato di rivalutare l'efficacia prognostica di due fattori già studiati nella letteratura precedente, la CRP e la PLC, oltre che di identificare nuovi indicatori efficaci, focalizzando l'attenzione su lipasi e cPLI.

I nostri risultati hanno indicato che, nella popolazione canina inclusa negli studi:

- i lattati ematici registrati al momento della presentazione in clinica non hanno dimostrato affidabilità prognostica, né considerando come valore soglia per l'aumento del rischio di necrosi gastrica o di morte quello proposto dallo studio di Green TI et al. (2011), né considerando come cut-off il valore designato come quello con maggior sensibilità e specificità nel nostro studio; anche un calo superiore al 50% della PLC a 24 ore dall'intervento chirurgico (T24) non ha dimostrato efficacia in questo senso; infine, le indicazioni date dai valori di PLC registrati a 48 ore dall'intervento chirurgico non si sono dimostrate utili ai fini prognostici, in quanto non sono state registrate variazioni significative tra tali valori e quelli registrati a T24;

- la CRP, con un valore soglia di 2.02 mg/dL, si è dimostrata essere un fattore prognostico di sopravvivenza attendibile, registrando il 100% di sensibilità e l'80% di specificità;
- un aumento della concentrazione prechirurgica di cPLI e di lipasi era associato ad una maggior probabilità di sviluppo di outcome negativo, in particolar modo per valori di cPLI > 400 µg/L, rendendo questi due fattori potenzialmente efficaci per essere utilizzati come fattori prognostico in corso di GDV.

Nonostante queste conclusioni siano valide solo per le piccole popolazioni di soggetti inclusi negli studi pilota condotti, pensiamo che possano essere risultati incoraggianti e un buon punto di partenza per successivi e più ampi studi sull'affidabilità di questi markers.

BIBLIOGRAFIA

1. Adamik KN, Burgener IA, Kovacevic A, et al., 2009. Myoglobin as a prognostic indicator for outcome in dogs with gastric dilatation-volvulus. *J Vet Emer Crit Care* 19(3):247-253. doi: 10.1111/j.1476-4431.2009.00421.x.
2. Allen P, Paul A, 2014. Gastropexy for Prevention of Gastric Dilatation-Volvulus in Dogs: History and Techniques. *Top Comp Anim Med* 29(3).
3. Aona BD, Rush JE, Rozanski EA, et al., 2017. Evaluation of echocardiography and cardiac biomarker concentrations in dogs with gastric dilatation volvulus. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 27(6):631-637. doi: 10.1111/vec.12667.
4. Beck JJ, Staatz AJ, Pelsue DH, et al., 2006. Risk factors associated with short-term outcome and development of perioperative complications in dogs undergoing surgery because of gastric dilatation-volvulus: 166 cases (1992-2003). *J Am Vet Med Assoc.* 229:1934-1939. doi: 10.2460/javma.229.12.1934.
5. Bell JS, 2014. Inherited and predisposing factors in the development of gastric dilatation volvulus in dogs. *Topics Comp An Med* 29:60-63.
6. Bi L, Triadafilopoulus G, 2003. Exercise and gastrointestinal function and disease: an evidence-based review of risks and benefits. *Clin Gastroenterol Hepatol* 1:345-355.
7. Bojrab MJ, 2014. Current techniques in small animal surgery. 5th ed. Tenton Newmedia.
8. Bredal WP, Eggertsdóttir AV, Austefjord O, 1996. Acute gastric dilatation in cats : a case series. *Acta Veterinaria Scandinavica* 37(4):445-51.
9. Brockman DJ, Washabau RJ, Drobatz KJ, 1995. Canine gastric dilatation/volvulus syndrome in a veterinary critical care unit: 295 cases (1986-1992). *J Am Vet Med*

Assoc 207:460-464.

10. Broome CJ, Walsh VP, 2003. Gastric dilatation – volvulus in dogs. New Zealand Vet Journ 51(6):275-283.
11. Brouman JD, Schertel ER, Allen DA, et al., 1996. Factors associated with perioperative mortality in dogs with surgically managed gastric dilatation-volvulus: 137 cases (1988-1993). J Am Vet Med Assoc 208:1855-1858.
12. Bruchim Y, Itay S, Shira BH, et al., 2012. Evaluation of lidocaine treatment on frequency of cardiac arrhythmias, acute kidney injury, and hospitalization time in dogs with gastric dilatation – volvulus. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care (San Antonio) 22(4) : 419-427.
13. Bruchim Y, Kelmer E, 2014. Postoperative management of dogs with gastric dilatation and volvulus. Top Comp Anim Med 29:81–85.
14. Buber T, Saragusty J, Ranen E, et al., 2007. Evaluation of lidocaine treatment and risk factors for death associated with gastric dilatation and volvulus in dogs: 112 cases (1997-2005). J Am Vet Med Assoc 230:1334-1339. doi: 10.2460/javma.230.9.1334.
15. Caywood DD, Teague HD, Jackson DA, et al., 1977. Gastric gas analysis in the canine gastric dilatation – volvulus syndrome. J Am Anim Hosp Assoc 13:459-462.
16. Collinson PO, Boa FG, Gaze DC, 2001. Measurement of cardiac troponins. Ann Clin Biochem 38:423–449.
17. De Battisti A, Toscano MJ, Formaggini L, 2012. Gastric foreign body as a risk factor for gastric dilatation and volvulus in dogs. J Am Vet Med Assoc 241(9):1190-1193.
18. De Papp E, Drobatz KJ and Hughes D, 1999. Plasma lactate concentration as a predictor of gastric necrosis and survival among dogs with gastric dilatation-volvulus: 102 cases (1995-1998). J Am Vet Med Assoc 215:49–52.
19. Dennler R, Koch D, Hassig M, et al., 2005. Climatic conditions as a risk factor in canine gastric dilatation – volvulus. Vet Journ 169(1) : 97-101.

20. di Mario F, Cavallaro LG, 2008. Non-invasive tests in gastric diseases. *Dig Liver Dis* 40:523–530.
21. Dossin O, 2011. Laboratory tests for diagnosis of gastrointestinal and pancreatic diseases. *Topics in Companion Animal Medicine* 26(2):86-97. doi: 10.1053/j.tcam.2011.02.005.
22. Dudley ES, Boivin GP, 2011. Gastric volvulus in guinea pigs: comparison with other species. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 50(4):526-530.
23. Elwood CM, 1998. Risk factors for gastric dilatation in Irish setter dogs. *J Small Anim Pract* 39(4):185-190.
24. Evans KM, Adams VJ, 2010. Mortality and morbidity due to gastric dilatation-volvulus syndrome in pedigree dogs in the UK. *J Small Anim Pract* 51(7):376-381.
25. Formaggini L, Schmidt K, De Lorenzi D, 2008. Gastric dilatation – volvulus associated with diaphragmatic hernia in three cats: clinical presentation, surgical treatment and presumptive aetiology. *J Fel Med Surg* 10(2):198-201.
26. Formaggini L, Tommasini Degna M, 2005. L'addome acuto. In Viganò F: *Medicina d'Urgenza e Terapia Intensiva del Cane e del Gatto*. Ed. Masson; Parte 2, 111-120.
27. Fossum T, 2002. *Small animal surgery*, Ed 3rd, St Louis, Ed: Mosby/Elsevier
28. Glickman LT, Glickman MS, Schellenberg DB et al., 2000. Non-dietary risk factors for gastric dilatation-volvulus in large and giant breed dogs. *J Am Vet Med Assoc* 217(19):1492-1499.
29. Glickman LT, Lantz GC, Schellenberg DB, et al., 1998. A prospective study of survival and recurrence following the acute gastric dilatation-volvulus syndrome in 136 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 34(3):253-259. doi: 10.5326/15473317-34-3-253.
30. Glickman LT, Schellenberg DB, Raghavan M, et al., 2000. Incidence of and breed-related risk factors for gastric dilatation-volvulus in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 216:40–45.
31. Goldhammer MA, Haining H, Milne EM, et al., 2010. Assessment of the incidence of

- GDV following splenectomy in dogs. *J Small Anim Pract* 51:23-28.
32. Goodrich ZJ, Powell LL, Hulting KJ, 2013. Assessment of two methods of gastric decompression for the initial management of gastric dilatation – volvulus. *Journ Small Anim Pract* 54(2):75-79.
 33. Goodwin JK, Shaer M, 1989. Septic shock. *Vet Clin North Am* 19 : 1239.
 34. Grange AM, Clough W, Casale A, 2012. Evaluation of splenectomy as a risk factor for gastric dilatation-volvulus. *J Am Vet Med Assoc* 241(4):461-466.
 35. Grassato L, Spinella G, Musella V, Giunti M, Valentini S. “Plasma lactate concentration: is it a reliable prognostic factor in dogs with gastric dilatation- volvulus?”; Scientific Presentation Abstracts: 2018 European College Veterinary Surgeons Annual Scientific Meeting, July 4-6, 2018 - Athens, Greece; *Vet Surg* 2018;47:E52
 36. Grassato L, Spinella G, Musella V, Giunti M, Vilar JM, Valentini S. “Pre- and post-surgical evaluation of plasma lactate concentration in 45 dogs with gastric dilatation-volvulus: a preliminary study”; *Heliyon* 6 (2020) e03307.
 37. Green TI, Tonozzi CC, Kirby R, et al., 2011. Evaluation of initial plasma lactate values as a predictor of gastric necrosis and initial and subsequent plasma lactate values as a predictor of survival in dogs with gastric dilatation-volvulus: 84 dogs (2003-2007). *J Vet Emerg Crit Care* 21:36-44. doi: 10.1111/j.1476-4431.2010.00599.x
 38. Griffith JW, Lang CM, 1984. Spontaneous gastric volvulus and bile duct hyperplasia in guinea pigs. *Lab Anim Sc* 34:507.
 39. Gritti I, Banfi G, Roi GS, 2000. Pepsinogens: Physiology, pharmacology pathophysiology and exercise. *Pharmacol Res* 41:265–281.
 40. Guilford WG, Center SA, Strombeck DR et al., 1996. Gastric dilatation, gastric dilatation-volvulus, and gastric volvulus. In: Strombeck’s small gastroenterology. Philadelphia: WB Saunders Co, 304-306.

41. Hamacher L, Dörfelt R, Müller M, et al., 2015. Serum Cardiac Troponin I Concentrations in Dogs with Systemic Inflammatory Response Syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29(1)
42. Hammel SP, Novo RE, 2006. Recurrence of gastric dilatation – volvulus after incisional gastropexy in a rottweiler. *Journ Am Anim Hosp Assoc* 42(2) : 147-150.
43. Herbold JR, Moore GE, Gosch TL, et al., 2002. Relationship between incidence of gastric dilatation – volvulus and biometeorologic events in a population of military working dogs. *Am Journ Vet Res* 63(1):47-52.
44. Hess RS, Kass PH, Shofer FS, et al., 1999. Evaluation of risk factors for fatal acute pancreatitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 214:46-51.
45. Hinton JD, Aitken-Palmer C, Joyner PH, et al., 2016. Fatal gastric dilatation in two adult black-footed ferrets (*Mustela nigripes*). *J Zoo Wildlife Med* 47(1):367-369.
46. Hinton JD, Padilla LR, Joyner PH, et al., 2017. Gastric dilatation volvulus in adult maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*). *J Zoo Wildlife Med* 48(2):476-483.
47. Horne WA, Gilmore DR, Ditze AE, et al., 1985. Effects of gastric distention-volvulus on coronary blood flow and myocardial oxygen consumption in the dog. *Am J Vet Res* 46:98-104.
48. Hozo SP, Djulbegovic B, Hozo I, 2005. Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample. *BMC Med Res Methodol* 5(1):13.
49. <https://thepethospitals.com>
50. Israeli I, Steiner J, Segev G, et al., 2012. Serum pepsinogen-A, canine pancreatic lipase immunoreactivity, and C-reactive protein as prognostic markers in dogs with gastric dilatation-volvulus. *J Vet Int Med* 26:920-928. doi: 10.1111/j.1939-1676.2012.00940.x
51. Kathrani A, Steiner JM, Suchodolski J, et al., 2009. Elevated canine pancreatic lipase immunoreactivity concentration in dogs with inflammatory bowel disease is associated

- with a negative outcome. *J Small Anim Pract.* 50:126-132. doi: 10.1111/j.1748-5827.2008.00693.x.
52. Komtebedde J, Guilford WG, Haskins SC, 1990. Surface oxygen tension (pO₂) of splanchnic viscera (SV) in experimental gastric dilatation – volvulus (GDV). *Vet Surg* 19:70.
 53. Kook PH, Kohler N, Hartnack S, et al., 2014. Agreement of Serum Spec cPL with the 1,2-o-Dilauryl-Rac-Glycero Glutaric Acid-(6'-methylresorufin) Ester (DGGR) Lipase Assay and with Pancreatic Ultrasonography in Dogs with Suspected Pancreatitis. *J Vet Intern Med* 28 863-870. doi:10.1111/jvim.12334.
 54. Lantz GG, Bottoms GD, Carlton WW, et al., 1984. The effect of 360° gastric volvulus on the blood supply of the nondistended normal dog stomach. *Vet Surg* 13:189–195.
 55. Lee KJ, Johnson WD, Lang CM, 1977. Acute gastric dilatation associated with gastric volvulus in the guinea pig. *Lab Anim Sc* 27(5 Pt 1):685-686.
 56. Leib MS, Blass CE, 1984. Acute gastric dilatation in the dog: various clinical presentations. *Comp Cont Educ* 6:707-712.
 57. Leib MS, Monroe WE, Martin RA, 1987. Suspected chronic gastric volvulus in a dog with normal gastric emptying of liquids. *J Am Vet Med Assoc* 191:699-700.
 58. Li C, Zhu Y, Shenoy M, et al., 2013. Anatomical and functional characterization of a duodeno-pancreatic neural reflex that can induce acute pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 304:G490–G500. doi: 10.1152/ajpgi.00012.2012.
 59. Mackenzie G, Barnhart M, Kennedy S, et al., 2010. A retrospective study of factors influencing survival following surgery for gastric dilatation-volvulus syndrome in 306 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 46(2):97-102. doi: 10.5326/0460097
 60. Mackenzie G, Barnhart M, Kennedy S, et al., 2010. A retrospective study of factors influencing survival following surgery for gastric dilatation-volvulus syndrome in 306 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 46:97-102. doi: 10.5326/0460097.

61. Maki LC, Males KN, Byrnes MJ, et al., 2017. Incidence of gastric dilatation-volvulus following a splenectomy in 238 dogs *Can Vet J* 58(12): 1275–1280.
62. Mansfield CS, Jones BR, 2000. Plasma and urinary trypsinogen activation peptide in healthy dogs, dogs with pancreatitis and dogs with other systemic disease. *Aust Vet J* 78:416-422.
63. Marconato L, 2006. Gastric dilatation-volvulus as complication after surgical removal of a splenic haemangiosarcoma in a dog. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 53:371-374
64. Matthiesen DT, 1983. The gastric dilatation-volvulus complex: medical and surgical considerations. *J Am Anim Hosp Assoc* 19:925-932.
65. Matthiesen DT, 2001. Fisiopatologia della sindrome dilatazione – volvolo gastrica. In Bojrab MJ: *Le basi patogenetiche delle malattie chirurgiche nei piccoli animali*; Ed. italiana a cura di Spadari A, Lamagna F, Fatone G, Modenato M; Ed. Giraldi, 297-312.
66. Mazzaferro E, Monnet E, 2013. Gastric Dilatation Volvulus. In Monnet E: *Small Animal Soft Tissue Surgery*; Ed. Wiley – Blackwell, 341-359.
67. McCord K, Morley PS, Armstrong J, et al., 2012. A multi-institutional study evaluating the diagnostic utility of the Spec cPLTM and SNAP® cPLTM in clinical acute pancreatitis in 84 dogs. *J Vet Intern Med* 26:888-896. doi: 10.1111/j.1939-1676.2012.00951.x.
68. McGinnity J, Welsh EM, 2016. Gastric dilatation and volvulus. Part 2: Intra- and post-operative patient care. *Vet Nurs Journ*, 31(7):213-217, DOI: 10.1080/17415349.2016.1176665.
69. McMichael M, Moore R, 2004. Ischemia–reperfusion injury pathophysiology, part I. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 14:231–241.
70. Miki K, 2006. Gastric cancer screening using the serum pepsinogen test method. *Gast Cancer* 9:245–253.

71. Millis DL, Hauptman JG, Fulton RB, 1993. Abnormal hemostatic profiles and gastric necrosis in canine gastric-dilatation volvulus. *Vet Surg* 22:93-97.
72. Millis ML, Nemzek J, Riggs C, 1995. Gastric dilatation-volvulus after splenic torsion in two dogs. *J Am Vet Med Assoc* 207:314-315.
73. Mitchell EB, Hawkins MG, Gaffney PM, et al., 2010. Gastric dilatation – volvulus in a guinea pig (*Cavia porcellus*). *J Am Anim Hosp Assoc* 46(3):174-180.
74. Monnet E, Pelsue D, MacPhail C, 2006. Evaluation of laser Doppler flowmetry for measurement of capillary blood flow in the stomach wall of dogs during gastric dilatation – volvulus. *Vet Surg* 35(2):198-205.
75. Monnet F, 2003. Gastric dilatation-volvulus syndrome in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 33:987-1005.
76. Mooney E, Raw C, Hughes D, 2014. Plasma lactate concentration as a prognostic biomarker in dogs with gastric dilatation and volvulus. *Topics in Companion Animal Medicine* 29:71-76. doi: 10.1053/j.tcam.2014.09.005
77. Moore GE, Levine M, Anderson JD, et al., 2008. Meteorological influence on the occurrence of gastric dilatation – volvulus in military working dogs in Texas. *International Journal of Biometeorology* 52(3) : 219-222.
78. Muir WW, 1982. Gastric dilatation-volvulus in the dog, with emphasis on cardiac arrhythmias. *J Am Vet Med Assoc* 180(7):739-742.
79. Mukoubayashi C, Yanaoka K, Ohata H, et al., 2007. Serum pepsinogen and gastric cancer screening. *Intern Med* 46: 261–266.
80. Neilsen C, Mans C, Colopy SA, 2014. Gastric Dilatation and Volvulus in a Red Panda (*Ailurus fulgens*). *Vet Surg* 43(8):1001-1003.
81. Neilson-Carley SC, Robertson JE, Newman SJ, et al., 2011. Specificity of a canine pancreas-specific lipase assay for diagnosing pancreatitis in dogs without clinical or histologic evidence of the disease. *Am J Vet Res* 72:302-307. doi:

10.2460/ajvr.72.3.302.

82. Nogradi AL, Cope I, Baloghi M et al., 2017. Review of gastric torsion in eight guinea pigs (*Cavia porcellus*). *Acta Vet Hungarica* 65(4):487-499.
83. O'Neill DG, Case J, Boag AK, et al., 2017. Gastric dilatation-volvulus in dogs attending UK emergency-care veterinary practices: prevalence, risk factors and survival. *J Small Anim Pract* 58(11):629-638.
84. Oron DL, Sigal K, Bruchim Y, et al., 2018. Comparison of saphenous and cephalic blood lactate concentrations in dogs with gastric dilatation and volvulus: 45 cases. *The Can J Vet Res* 82:271–277.
85. Oron LD, Klainbart S, Bruchim Y, et al., 2018. Comparison of saphenous and cephalic blood lactate concentration in dogs with gastric dilatation and volvulus: 45 cases. *Can J Vet Res* 82(4):271-277.
86. Paris JK, Yool DA, Reed N., et al., 2011. Chronic gastric instability and presumed incomplete volvulus in dogs. *J Small Anim Pract* 52:651-655.
87. Parton AT, Volk SW, Weisse C, 2006. Gastric ulceration subsequent to partial invagination of the stomach in a dog with gastric dilatation volvulus. *J Am Vet Med Assoc* 228:1895.
88. Pieschl RL, Toll PW, Leith DE, et al., 1992. Acid-base changes in the running greyhound: contributing variables. *J Appl Physiol* 73:2297–2304.
89. Pipan M, Brown DC, Battaglia CL, et al., 2012. *J Am Vet Med Assoc* 240(12):1456-1462.
90. Plunkett SJ, 2007. Dilatazione Gastrica e Volvolo (GDV). In Plunkett SJ: *Pronto Soccorso Veterinario*; Ed. Italiana a cura di Novello L, Carobbi B; Ed. UTET, 125-126.
91. Polzin DJ, Osborne CA, Stevens JB, et al., 1983. Serum amylase and lipase activities in dogs with chronic primary renal failure. *Am J Vet Res* 44:404-410.
92. Radlinsky MG, 2013. Surgery of the Digestive System. In Fossum TW: *Small Animal*

Surgery; 4th edition; Ed. Elsevier – Mosby, Part Two, 461-487.

93. Raghavan M, Glickman N, McCabe G et al., 2004. Diet-related risk factors for gastric dilatation-volvulus in dogs of high-risk breeds. *J Am Anim Hosp Assoc* 40:192-203.
94. Rasmussen L, 2005. Stomaco. In Slatter D: *Trattato di chirurgia dei piccoli animali*; Ed. Italiana a cura di Vitali E.; Ed. Antonio Delfino Editore 592-640.
95. Rasmussen L, 2005. Stomaco. In Slatter D: *Trattato di chirurgia dei piccoli animali*; Ed. Italiana a cura di Vitali E; Antonio Delfino Editore; 592-640.
96. Reinhart K, Meisner M, 2011. Biomarkers in the critically ill patient: procalcitonin. *Crit Care Clin*.
97. Robergs RA, Ghiasvand F and Parker D, 2004. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287:502–516.
98. Rovira S, Muñoz A and Benito M, 2007. Fluid and electrolyte shifts during and after agility competitions in dogs. *J Vet Med Sci* 69:31–35.
99. Saba TM, 1975. Reticuloendothelial systemic host defense after surgery and traumatic shock. *Circulatory Shock* 2 : 91.
100. Santoro Beer KA, Syring RS and Drobatz KJ, 2013. Evaluation of plasma lactate concentration and base excess at the time of hospital admission as predictors of gastric necrosis and outcome and correlation between those variables in dogs with gastric dilatation-volvulus: 78 cases (2004-2009). *J Am Vet Med Assoc* 242(1):54–58.
101. Sartor AJ, Bentley AM, Brown DC, 2013. Association between previous splenectomy and gastric dilatation – volvulus in dogs: 453 cases (2004-2009). *J Am Vet Med Assoc* 15; 242(10) : 1381-1384.
102. Schellenberg D, Yi Q, Glickman NW, et al., 1998. Influence of thoracic conformation and genetics on the risk of gastric dilatation – volvulus in Irish setters. *J Am Anim Hosp Assoc* 34(1):64-73.
103. Schlanser JR, Agnew D, Paperd DW, et al., 2014. Gastric dilatation – volvulus in a Red

Panda (*Ailurus fulgens*). *J Vet Med Sc* 76(6):901-903.

104. Schober KE, Cornand C, Kirbach B, et al., 2002. Serum cardiac troponin I and cardiac troponin T concentrations in dogs with gastric dilatation-volvulus. *J Am Vet Med Assoc* 221:381–388
105. Schuetz P, Birkhahn R, Sherwin R, et al., 2017. Serial procalcitonin predicts mortality in severe sepsis patients; results from the Multicenter Procalcitonin MOnitoring Sepsis (MOSES) Study. *Crit care Med* 45:781.
106. Sharp CR, Rozanski EA, 2014. Cardiovascular and systemic effects of gastric dilatation and volvulus in dogs. *Top Companion Anim Med* 29(3):67-70. doi: 10.1053/j.tcam.2014.09.007.
107. Simpson KW, Simpson JW, Lake S, et al., 1991. Effect of pancreatectomy on plasma activities of amylase, isoamylase, lipase and trypsin-like immunoreactivity in dogs. *Res Vet Sci* 51:78-82.
108. Spinella G, Dondi F, Grassato L, et al., 2018. Prognostic value of canine pancreatic lipase immunoreactivity and lipase activity in dogs with gastric dilatation-volvulus. *PLoS One* 13(9).
109. Steiner JM, 2003. Diagnosis of pancreatitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 33:1181-1195.
110. Steiner JM, 2008. *Small Animal Gastroenterology*. 1st ed. Schlütersche-Verlagsgesellschaft mbH, Hannover Germany.
111. Steiner JM, Rutz GM, Williams DA, 2006. Serum lipase activities and pancreatic lipase immunoreactivity concentrations in dogs with exocrine pancreatic insufficiency. *Am J Vet Res* 67:84-87.
112. Suchodolski JS, Steiner JM, Ruaux CG, et al., 2002. Purification and partial characterization of canine pepsinogen A and B. *Am J Vet Res* 63:1585–1590.
113. Theyse LF, van de Brom WE, van Sluijs FJ, 1998. Small size of food particles and age

- as risk factors for gastric dilatation – volvulus in great danes. *Vet Rec* 143(2):48-50.
114. Trivedi S, Marks SL, Kass JA, et al., 2011. Sensitivity and specificity of canine pancreas-specific lipase (cPL) and other markers for pancreatitis in 70 dogs with and without histopathologic evidence of pancreatitis. *J Vet Intern Med* 25:1241-1247. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.00793.x.
115. Troia R, Giunti M, Calipa S, et al., 2018 (a). Cell-Free DNA, high-mobility group box-1, and procalcitonin concentrations in dogs with gastric dilatation-volvulus syndrome. *Front Vet Sc* 9:5-67.
116. Troia R, Giunti M, Goggs R, 2018 (b). Plasma procalcitonin concentrations predict organ dysfunction and outcome in dogs with sepsis. *BMC Vet Res* 14:111.
117. Uhrikova I, Machackova K, Rauserova-Lexmaulova R et al., 2013. Disseminated intravascular coagulation in dogs with gastric dilatation-volvulus syndrome. *Veterinarni Medicina* 58(11):587-590.
118. Uhrikova I, Rauserova-Lexmaulova L, Rehakova K, 2015. C-reactive protein and high mobility group box 1 in dogs with gastric dilatation and volvulus. *J Vet Emerg Crit Care* 25(4):488–494.
119. Uhrikova I, Rehakova F, Rauserova-Lexmaulova R et al., 2011. Initial HMGB1 values in dogs with gastric dilatation and volvulus – a pilot study. *Vet Clin Path* 40:587.
120. Vaidya HC, 1992. Myoglobin. *Lab Med* 23:306-310.
121. Van Kruiningen HJ, Gargamelli C, Havier J, et al., 2013. Stomach gas analyses in canine acute gastric dilatation with volvulus. *J Vet Int Med* 27(5):1260-1261.
122. Van Sluijs FJ, Happe RP, 1985. The gastric dilatation – torsion syndrome. In: *Textbook of Small Animal Surgery*; Edited by Slatter DH; Philadelphia, W.B. Saunders, 1985.
123. Verschoof J, Moritz A, Kramer M, et al., 2015. Hemostatic variables, plasma lactate concentration, and inflammatory biomarkers in dogs with gastric dilatation-volvulus. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 43(6):389-398. doi: 10.15654/TPK-150284.

124. Viganò F, 2006: Medicina d'Urgenza e Terapia Intensiva del Cane e del Gatto. Ed. Masson.
125. Wada H, 2004. Disseminated intravascular coagulation. *Clinical Chemistry Acta* 344:13-21.
126. Watson K, Tobias KM, 2006. Incisional gastropexy. *Vet Med* 101:213–218.
127. Wells RJ, Gionfriddo JR, Hackett TB, et al., 2007. Canine and feline emergency room visits and the lunar cycle: 11,940 cases (1992-2002). *Journ Am Vet Med Assoc* 15; 231(2):251-253.
128. Wheaton LG, Thacker HI, Caldwell S, 1986. Intravenous fluorescein as an indicator of gastric viability in gastric dilatation – volvulus. *J Am Anim Hosp Assoc* 22:197-204.
129. Wingfield WE, Betts CW, Rawlings CA, 1976. Pathophysiology associated with gastric dilatation – volvulus in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 12:136.
130. Zacher LA, Berg J, Shaw SP, et al., 2010. Association between outcome and changes in plasma lactate concentration during presurgical treatment in dogs with gastric dilatation-volvulus: 64 cases (2002-2008). *J Am Vet Med Assoc* 236:892-897. doi: 10.2460/javma.236.8.892.
131. Zatloukal J, Crha M, Lexmaulova L, et al., 2005. Gastric dilatation-volvulus syndrome: outcome and factors associated with perioperative mortality. *Acta Vet Brno* 74(4):621-631.